

L'Institut Agro Rennes-Angers
 Site d'Angers Site de Rennes

<p>Année universitaire : 2022-2023 Spécialité : Ingénieur Agronome Spécialisation : Science et Ingénierie du Végétal Option : Génétique et Amélioration des Plantes (GAP)</p>	<p>Mémoire de fin d'études</p> <p><input type="checkbox"/> D'ingénieur de l'Institut Agro Rennes-Angers (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)</p> <p><input type="checkbox"/> De master de l'Institut Agro Rennes-Angers (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)</p> <p><input type="checkbox"/> De l'Institut Agro Montpellier (étudiant arrivé en M2)</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> D'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)</p>
---	--

Cartographie fine et étude des interactions épistatiques entre QTLs de résistance à la tavelure chez le pommier

Par : Camille HAQUET



Soutenu à Rennes le 12 septembre 2023

Devant le jury composé de :

Président/ Enseignant référent : Anne LAPERCHE

Rapporteur : Mélanie JUBAULT

Maîtres de stage : Julie FERREIRA DE CARVALHO,
Charles-Eric DUREL, Caroline DENANCE

Examineur : Maria MANZANARES-DAULEUX

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle de l'Institut Agro Rennes-Angers et l'université de Rennes 1

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation « Paternité-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France » disponible en ligne <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>



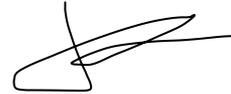
Fiche de confidentialité et de diffusion du mémoire

Confidentialité

Non Oui si oui : 1 an 5 ans 10 ans

Pendant toute la durée de confidentialité, aucune diffusion du mémoire n'est possible ⁽¹⁾.

Date et signature du maître de stage ⁽²⁾ : Angers, le 30/05/2023
(ou de l'étudiant-entrepreneur)



A la fin de la période de confidentialité, sa diffusion est soumise aux règles ci-dessous (droits d'auteur et autorisation de diffusion par l'enseignant à renseigner).

Droits d'auteur

L'auteur⁽³⁾ **HAQUET Camille**

autorise la diffusion de son travail (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

Oui Non

Si oui, il autorise

- la diffusion papier du mémoire uniquement⁽⁴⁾
- la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé
- la diffusion papier et électronique du mémoire (joindre dans ce cas la fiche de conformité du mémoire numérique et le contrat de diffusion)

(Facultatif) accepte de placer son mémoire sous licence Creative commons CC-By-Nc-Nd (voir Guide du mémoire Chap 1.4 page 6)

Date et signature de l'auteur :



Savennières le 27/05/2023

Autorisation de diffusion par le responsable de spécialisation ou son représentant

L'enseignant juge le mémoire de qualité suffisante pour être diffusé (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

Oui Non

Si non, seul le titre du mémoire apparaîtra dans les bases de données.

Si oui, il autorise

- la diffusion papier du mémoire uniquement⁽⁴⁾
- la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé
- la diffusion papier et électronique du mémoire

Date et signature de l'enseignant :

(1) L'administration, les enseignants et les différents services de documentation de l'Institut Agro Rennes-Angers s'engagent à respecter cette confidentialité.

(2) Signature et cachet de l'organisme

(3) Auteur = étudiant qui réalise son mémoire de fin d'études

(4) La référence bibliographique (= Nom de l'auteur, titre du mémoire, année de soutenance, diplôme, spécialité et spécialisation/Option)) sera signalée dans les bases de données documentaires sans le résumé

Remerciements

Je tiens à exprimer ma gratitude à toutes les personnes qui ont contribué de manière significative à la réalisation de ce stage de fin d'études. Leur soutien et leur expertise ont été inestimables tout au long de ce parcours.

Tout d'abord, je tiens à adresser mes remerciements les plus chaleureux à mes encadrants qui m'ont guidée tout au long de ce stage avec bienveillance : Julie, Caroline et Charles-Eric. Julie, je te suis particulièrement reconnaissante pour ta présence constante et ton écoute attentive. J'ai été ravie de t'avoir comme maître de stage et j'envie déjà les prochains stagiaires que tu pourras accompagner. Un grand merci à Caroline pour ton précieux concours au sein du laboratoire et même ailleurs. À Charles-Éric, je suis extrêmement reconnaissante pour vos retours d'expert. Je souhaite également exprimer ma reconnaissance vers d'autres personnes de l'équipe. À Romane, merci pour nos discussions. À Hélène, pour ton assistance précieuse sur certaines analyses statistiques.

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude envers d'autres équipes de l'IRHS. VADIPOM, pour leur intérêt sur le sujet de stage et les discussions autour de la sélection ; je remercie notamment Aurélien, François et Bernard. PHENOTIC pour leur présence et aide lors de l'expérimentation en serre. Mes remerciements s'adressent également au plateau ANAN, notamment envers Muriel et Annie, pour leur contribution précieuse au génotypage des individus. Je remercie aussi l'Unité Expérimentale Horticole pour leur aide indispensable lors de la plantation des pommiers en plein champ.

Enfin, et au terme de mon parcours d'études en agronomie, il est presque irréel pour la jeune étudiante en provenance du lycée de campagne que j'étais de réaliser tout le chemin parcouru. Les années écoulées ont été marquées par des découvertes et des accomplissements auxquels je ne me serais jamais attendu. Pour cela, je tiens à remercier l'Ecole Supérieure d'Agricultures et l'Institut Agro Rennes-Angers, ainsi que leurs enseignants.

Merci à Manon et Paul pour ces quatre années partagées au sein de l'ESA, qui resteront très certainement mes années préférées. Merci à notre petit groupe de six, Romane, Alexis, Mathis, Romain et Pierre, pour ces moments passés à l'Agro de Rennes.

Mes presque cinq années écoulées à Angers ont été empreintes d'une affection particulière pour cette ville qui m'a accueillie. Et malgré la nostalgie de la campagne beauceronne, merci à toi Charles d'avoir été un compagnon de voyage m'ayant fait découvrir la beauté de la campagne angevine.

Finalement, à ma famille, je veux exprimer une reconnaissance infinie pour leur soutien. Merci à mes parents de m'avoir permis de réaliser ces études, et merci à mes deux sœurs pour leur présence continue.

Avec une profonde reconnaissance,

Camille

Avant-propos

Ce stage, réalisé au sein de l'équipe Respom de l'UMR IRHS à Beaucozé, a été mené en collaboration avec le groupement de sélectionneurs NOVADI.

Le programme d'amélioration du pommier de NOVADI s'effectue en partenariat avec l'INRAE grâce à l'équipe Vadipom et avec le soutien de l'Unité Expérimentale Horticole. NOVADI se positionne en tant qu'utilisateur des recherches fondamentales menées à l'INRAE et partage les réflexions concernant de nouvelles stratégies pour combiner les gènes majeurs et mineurs de résistance en vue de développer des résistances durables. Ces collaborations se manifestent notamment par l'intégration des marqueurs autour des QTLs de résistance pour les programmes de sélection utilisant la SAM.

Cette collaboration entre NOVADI et l'INRAE a ainsi conduit à l'obtention d'une bourse de stage de niveau M2 du GIS Fruit pour la réalisation du travail présenté ici.

Table des matières

I-	Introduction	1
1.	Introduction générale	1
2.	Amélioration de la résistance du pommier face à la tavelure : un enjeu majeur pour l'agriculture	1
a.	La pomme, un fruit d'une importance agronomique et économique capitale.....	1
b.	Une culture à fort IFT.....	2
3.	Pathosystème <i>Malus domestica</i> - <i>Venturia inaequalis</i>	2
a.	<i>Malus domestica</i>	2
b.	<i>Venturia inaequalis</i>	3
4.	Deux types de résistances génétiques et mécanismes moléculaires sous-jacents.....	4
a.	La résistance qualitative	4
b.	La résistance quantitative	5
c.	La construction de résistances plus durables	7
5.	Problématique	7
II-	Matériels et méthodes	8
1.	Matériel végétal	8
2.	Dispositif expérimental	8
a.	Conditions de croissance des plantes.....	8
b.	Stratégie et plan expérimental	9
c.	Préparation de l'inoculum.....	9
d.	Inoculation en serre	10
3.	Acquisition et traitements des données de génotypage et phénotypage	10
a.	Données de phénotypage	10
b.	Données de génotypage.....	11
4.	Détection des QTLs	12
5.	Dénombrements de gènes et annotations fonctionnelles.....	13
III-	Résultats.....	14
1-	Étude exploratoire des variables de sensibilité et de résistance	14
a.	Souche Vi-B04	14
b.	Souche Vi-Z14	14
2-	Étude de l'interaction épistatique qF11*qF17	15
3-	Cartographie fine des QTLs de résistance	16
a.	qT1.....	16
b.	qF3	16
c.	qT13.....	17
d.	qF11	18
e.	qF17.....	18
4-	Étude des gènes et fonctions sous-jacents	19
IV-	Discussion	21
V-	Conclusion et perspectives	25
	Bibliographie.....	26
	Annexes.....	29

Table des figures

Figure 1. Évolution de la superficie récoltée en hectares (courbe bleue) et de la production de pommes en millions de tonnes (courbe rouge) dans le monde de 1961 à 2021(FAOSTAT 2023).....	1
Figure 2. Classement des dix premiers pays producteurs de pommes en millions de tonnes en 2021 (FAOSTAT 2023)	1
Figure 3. Histoire de la domestication du pommier cultivé (<i>Malus domestica</i>) en Eurasie (Cornille et al., 2014)	2
Figure 4. Schéma des 17 chromosomes du pommier (Daccord et al., 2017).....	3
Figure 5. Schéma du cycle de <i>Venturia inaequalis</i> (agent responsable de la tavelure ; Ephytia INRAE)	3
Figure 6. Symptômes de sensibilité à <i>Venturia inaequalis</i> sur fruit (A) et sur feuille (B) en verger (image interne IRHS)	4
Figure 7. Schéma représentant la dualité qualitative-quantitative de la résistance aux maladies des plantes du point de vue de la biologie des populations et de la biologie moléculaire (Roux et al., 2014).....	4
Figure 8. Carte génétique schématique représentant les gènes majeurs et QTLs détectés pour la résistance du pommier à la tavelure (source interne IRHS créée par Charles-Eric DUREL et mis à jour par Romane LAPOUS).....	6
Figure 9. Protocole de création de la solution de spores de <i>Venturia inaequalis</i>	9
Figure 10. Échelle de notation de la sporulation : pourcentage de sporulation des feuilles inoculées à 14 et 21 jours après l'inoculation (Calenge et al., 2004).....	10
Figure 11. Différentes ségrégations attendues des marqueurs SNP en fonction du type d'espèce (homozygote ou hétérozygote ; adapté de Romane LAPOUS).....	11
Figure 12. Carte physique des marqueurs SNPs utilisés pour le génotypage des individus de la descendance F	11
Figure 13. Distribution des différentes variables de sensibilité et de résistance à la tavelure obtenus lors de l'inoculation avec la souche Vi-B04.....	14
Figure 14. Distribution des différentes variables de sensibilité et de résistance à la tavelure obtenus lors des deux inoculations avec la souche Vi-Z14.....	15
Figure 15. Carte génétique, intervalles de confiance et courbes de LOD associés au locus de caractères quantitatifs qT1 lors des différentes détectations avec la première souche de <i>Venturia</i> Vi-B04 (A) et la deuxième Vi-Z14 (B)	16
Figure 16. Carte génétique, intervalles de confiance et courbes de LOD associés au locus de caractères quantitatifs qT13 lors des différentes détectations avec la première souche de <i>Venturia</i> Vi-B04 (A) et la deuxième Vi-Z14 (B).....	17
Figure 17. Carte génétique, intervalles de confiance et courbes de LOD associés au locus de caractères quantitatifs qF11 lors des différentes détectations avec la première souche de <i>Venturia</i> Vi-B04 (A) et la deuxième Vi-Z14 (B).....	18
Figure 18. Carte génétique, intervalles de confiance et courbes de LOD associés au locus de caractères quantitatifs qF17 lors des différentes détectations avec la première souche de <i>Venturia</i> Vi-B04 (A) et la deuxième Vi-Z14 (B).....	19
Figure 19. Comparaison des intervalles de confiance de qT1 issus de la précédente étude et de la présente sur la carte physique du pommier	21
Figure 20. Comparaison des intervalles de confiance de qT13 issus de la précédente étude et de la présente sur la carte physique du pommier.....	22
Figure 21. Comparaison des intervalles de confiance de qF11 issus de la précédente étude et de la présente sur la carte physique du pommier.....	23
Figure 22. Comparaison des intervalles de confiance de qF17 issus de la précédente étude et de la présente sur la carte physique du pommier.....	23

Table des tableaux

Tableau 1. Nombre moyen de traitements phytosanitaires selon les fruits et par type de traitement en 2018 (Agreste – Enquêtes Pratiques phytosanitaires en arboriculture 2018).....	2
Tableau 2. Gènes de résistance à la tavelure chez le pommier et leur gène d'avirulence correspondant chez <i>Venturia inaequalis</i> (Khajuria et al, 2018)	5
Tableau 3. Paramètres associés aux locus de caractères quantitatifs (QTLs) identifiés pour la résistance à la tavelure (expériences Vi-B04, Vi-B04qT1-, et Vi-Z14) dans la descendance TxF d'après Bénéjam et al., 2021.	6
Tableau 4. Conditions sous serre en fonction de la période de l'expérimentation	8
Tableau 5. Date, nombre de plantes concernées, souche utilisée, taux de germination de l'inoculum et phénotypes notés pour chacune des trois inoculations réalisées.....	9
Tableau 6. Définition des jeux de données étudiés pour la détection de QTLs (A) et des relations épistatiques de qF17 (B) et de qF11 (C).....	13
Tableau 7. Coefficients de corrélation de Pearson entre variables de sensibilité et de résistance à la tavelure obtenus lors de l'inoculation avec la souche Vi-B04	14
Tableau 8. Coefficient de corrélation de Pearson entre variables de sensibilité et de résistance à la tavelure obtenus lors des deux inoculations avec la souche Vi-Z14	15
Tableau 9. Paramètres associés au locus de caractères quantitatifs qT1 identifiés pour la résistance à la tavelure dans la famille F avec les différents jeux de données et variables utilisées.....	16
Tableau 10. Paramètres associés au locus de caractères quantitatifs qT13 identifiés pour la résistance à la tavelure dans la famille F avec les différents jeux de données et variables utilisées.....	17
Tableau 11. Paramètres associés au locus de caractères quantitatifs qF11 identifiés pour la résistance à la tavelure dans la famille F avec les différents jeux de données et variables utilisées.....	18
Tableau 12. Paramètres associés au locus de caractères quantitatifs qF17 identifiés pour la résistance à la tavelure dans la famille F avec les différents jeux de données et variables utilisées.....	19
Tableau 13. Annotations des gènes différentiellement exprimés entre avant et après inoculation à <i>Venturia inaequalis</i> sous les intervalles de confiance de qT1, qF11 et qF17 chez des individus appartenant à différentes classe génotypique (T1, F11F17 et T1F11F17)	20
Tableau 14. Marqueurs et positions associés aux intervalles de confiance et pic de QTL pour qT1	21
Tableau 15. Marqueurs et positions associés aux intervalles de confiance et pic de QTL pour qT13	22

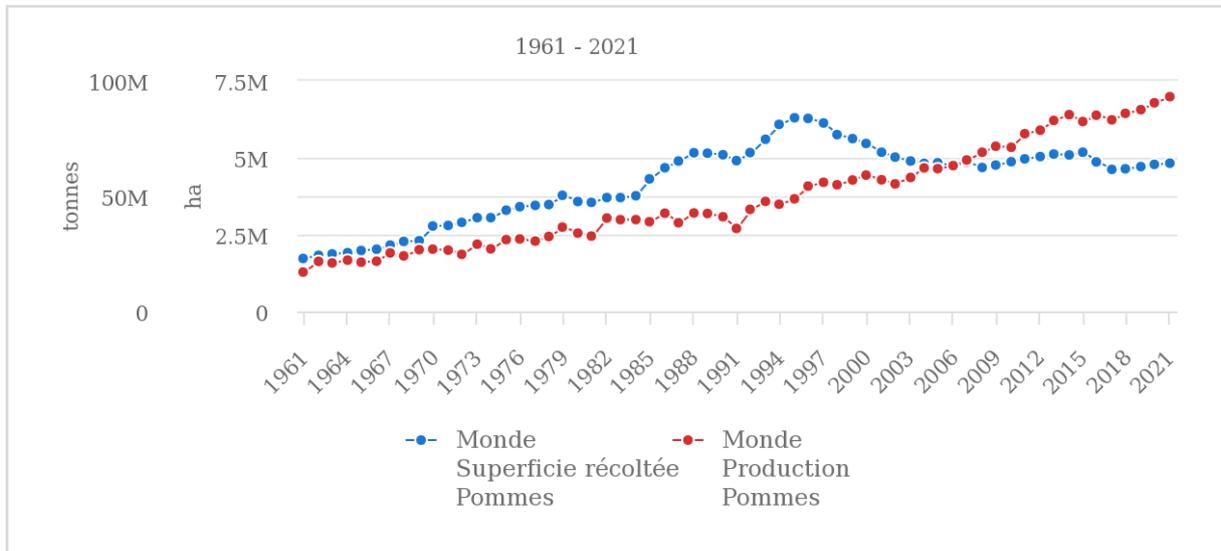


Figure 1. Évolution de la superficie récoltée en hectares (courbe bleue) et de la production de pommes en millions de tonnes (courbe rouge) dans le monde de 1961 à 2021(FAOSTAT 2023)

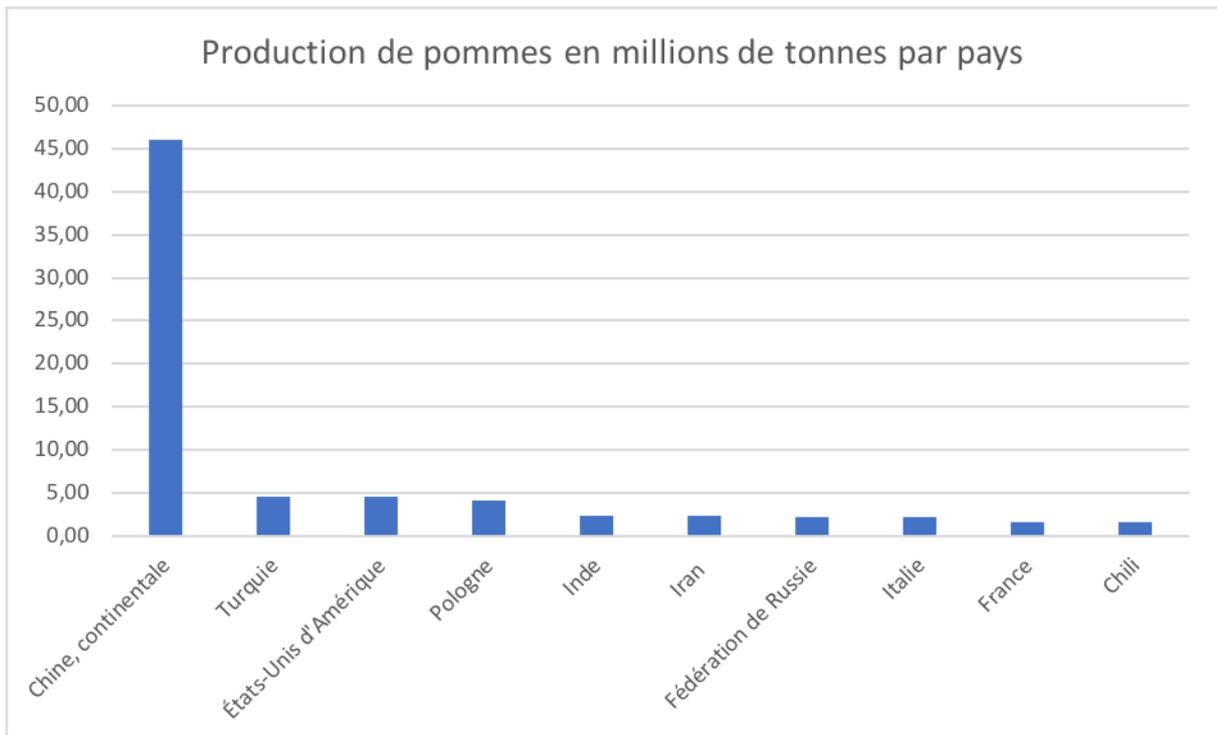


Figure 2. Classement des dix premiers pays producteurs de pommes en millions de tonnes en 2021 (FAOSTAT 2023)

I- Introduction

1. Introduction générale

La réduction de l'utilisation des produits phytosanitaires est devenue une priorité majeure en France. Afin de répondre à ce besoin, plusieurs leviers alternatifs de lutte contre les bioagresseurs sont actuellement développés et déployés, tels que le recours aux produits de bio contrôle, l'emploi d'itinéraires techniques plus adaptés et l'utilisation de variétés génétiquement résistantes. Afin de promouvoir une agriculture plus durable, il est impératif de développer ces alternatives aux produits phytosanitaires, notamment pour la culture du pommier (*Malus domestica*) en raison de sa popularité et de son impact économique significatif. De fait, la lutte contre les maladies fongiques, à l'instar de la tavelure (causée par *Venturia inaequalis*), nécessite souvent une utilisation intensive de produits chimiques pour maintenir la santé des arbres et la qualité des récoltes.

Dans ce contexte, la recherche sur la résistance génétique du pommier à la tavelure apparaît comme un des leviers à mettre en place afin de proposer des solutions plus durables. L'identification des gènes et des mécanismes moléculaires impliqués dans les résistances génétiques reste un objectif majeur pour accompagner la création de nouvelles variétés durablement résistantes. S'appuyant sur l'identification préalable de cinq QTLs de résistance, le but de ce stage a été de préciser leurs intervalles de confiance dans une population en descendance élargie. Il a également permis la précision de leurs positions physiques sur le génome du pommier et a proposé des hypothèses sur les gènes candidats sous-jacents et leurs potentielles fonctions impliquées dans la résistance.

2. Amélioration de la résistance du pommier face à la tavelure : un enjeu majeur pour l'agriculture

a. La pomme, un fruit d'une importance agronomique et économique capitale

Le pommier (*Malus domestica*) est la deuxième espèce fruitière la plus cultivée au monde avec une production de 93 millions de tonnes de pommes sur une surface de 4,8 millions d'hectares, essentiellement en climat tempéré (Figure 1; FAOSTAT, 2023). La République Populaire de Chine en est le plus grand producteur, représentant presque 50 % de la production mondiale de pommes (Figure 2 ; FAOSTAT, 2023).

A l'échelle de la France, la pomme figure comme le fruit préféré des Français (Ministère de l'agriculture et de la souveraineté alimentaire, 2021). Avec une production de 1,6 millions de tonnes, la France se classe à la 9ème place en production mondiale et 3ème à l'échelle européenne. A l'international, l'Union Européenne produit plus de 10 millions de tonnes soit 17 % de la production mondiale (Figure 2 ; FAOSTAT, 2023).

En termes de débouché français, plus de 80% de la récolte de pommes est destinée à être mangée comme crue, on parle également de 'pomme de table' (par opposition aux pommes à cuire, à jus, et à cidre ; Pleinchamp, 2022).

Tableau 1. Nombre moyen de traitements phytosanitaires selon les fruits et par type de traitement en 2018 (Agreste – Enquêtes Pratiques phytosanitaires en arboriculture 2018)

Indicateur	Pomme			Prune			Pêche	Abricot	Cerise	Banane	Clémentine	Agrumes
	Pomme ensemble	Pomme Bio	Pomme non bio	Prune Ensemble	Prune Autre	Prune d'ente						
Herbicides	1,5	0,0	1,8	1,6	1,1	1,8	1,6	1,4	1,0	1,9	1,0	3,0
Demi-intervalle de confiance	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4
Fongicides	23,4	17,7	24,5	6,1	5,7	6,3	11,9	7,6	4,7	6,2	0,9	ns
Demi-intervalle de confiance	0,3	0,7	0,3	0,2	0,2	0,2	0,6	0,3	0,2	0,1	0,1	ns
Insecticides	8,9	8,3	9,0	3,9	4,1	3,8	7,4	2,4	4,2	ns	4,8	0,5
Demi-intervalle de confiance	0,1	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2	0,4	0,2	0,3	ns	0,4	0,1
Autres	2,0	0,5	2,3	0,1	0,0	0,1	ns	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
Demi-intervalle de confiance	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	ns	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Total	35,9	26,5	37,6	11,7	10,9	12,0	21,2	11,4	10,0	8,1	6,7	3,8
Demi-intervalle de confiance	0,4	0,8	0,5	0,3	0,4	0,3	1,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,4

Note de lecture : en 2018, le nombre moyen de traitements phytosanitaires herbicides pour la pomme non bio est estimé à 1,8 avec une erreur de 0,1, c'est-à-dire qu'il y a 95% de chances de se situer entre 1,7 et 1,9.

Champ : France métropolitaine, Corse pour la clémentine, Martinique et Guadeloupe pour la banane, et Guyane pour les agrumes.

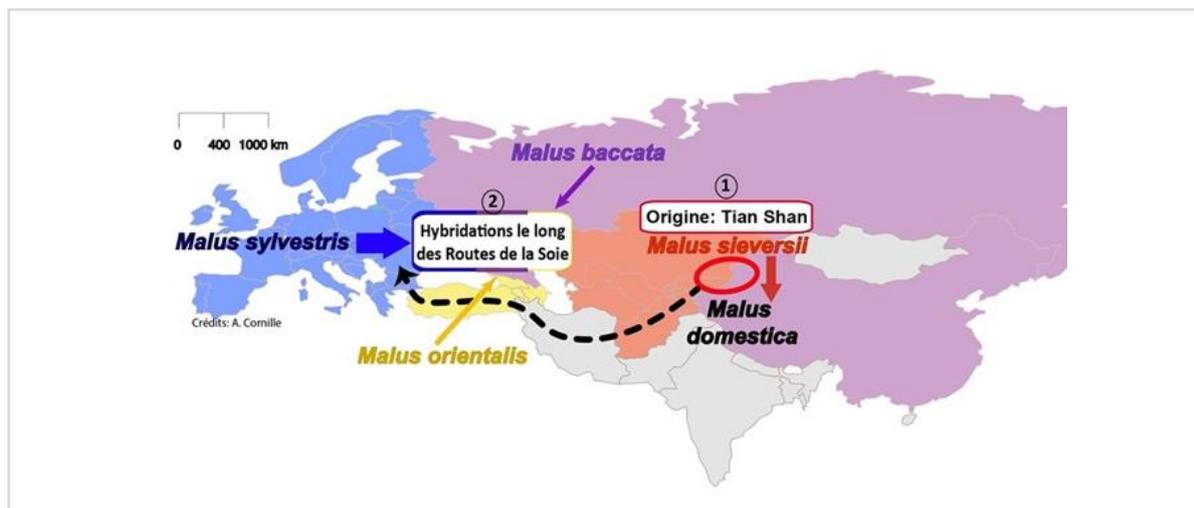


Figure 3. Histoire de la domestication du pommier cultivé (*Malus domestica*) en Eurasie (Cornille et al., 2014)

1. Domestication du pommier il y a 10 000 ans dans les montagnes du Tian Shan en Asie Centrale à partir du pommier sauvage d'Asie Centrale, *Malus sieversii*.

2. Diffusion le long des Routes de la Soie. *M. baccata*, *M. orientalis*, et *M. sylvestris* en Europe, ont contribué au génome du pommier cultivé par des hybridations.

b. Une culture à fort IFT

Dans le but de maintenir la qualité esthétique du fruit ou plus globalement la santé de l'arbre, les pommeraies représentent les surfaces arboricoles les plus traitées de l'hexagone. En effet, les vergers de pommiers en agriculture conventionnelle reçoivent en moyenne 37,6 traitements phytosanitaires, dont 65% pour lutter contre des maladies fongiques (Tableau 1 ; Agreste, 2018).

Parmi les maladies fongiques les plus problématiques, la tavelure du pommier (causée par le champignon *Venturia inaequalis*) représente à elle seule une vingtaine de traitements chimiques par an. Cette maladie se manifeste par des taches brunâtres sur les feuilles, les fleurs et les fruits, ce qui peut entraîner une chute prématurée des feuilles et des fruits, une décoloration des fruits, ainsi qu'une altération de leur goût et de leur texture (MacHardy, 1996).

Cependant, l'utilisation des produits phytosanitaires est de plus en plus remise en question pour de nombreuses raisons, notamment, de par leur susceptibilité à engendrer des risques en termes de santé humaine et de protection de l'environnement.

Ainsi, augmenter durablement la résistance des pommiers à la tavelure, notamment en passant par la résistance génétique, est un enjeu majeur sur le plan socio-économique et environnemental pour cette culture.

3. Pathosystème *Malus domestica* - *Venturia inaequalis*

a. *Malus domestica*

Le pommier commun, de son nom *Malus domestica*, est un arbre de la famille des Rosaceae, au même titre que d'autres espèces fruitières ou ornementales d'importance économique majeure telles que le cerisier, le fraisier ou encore le rosier. Le genre *Malus* regroupe plus d'une trentaine d'espèces, parmi lesquelles on compte évidemment *Malus domestica*, mais aussi des espèces apparentées sauvages e.g. *Malus sieversii*, *Malus sylvestris*, *Malus orientalis* et *Malus baccata* (Phipps et al., 1990 ; Fiala, 1994).

Malus sieversii est l'ancêtre principal du pommier domestique. L'espèce originaire d'Asie centrale aurait été transportée dans le monde occidental par les voyageurs sur les routes de la Soie au temps de la Rome Antique (Forte et al., 2002 ; Harris et al., 2002). Cependant, le génome de *M. domestica* porte également des marques de flux génétiques depuis d'autres espèces sauvages qui sont présentes le long des routes de la Soie, et notamment de *Malus sylvestris*. En effet, le pommier sauvage européen (*M. sylvestris*) a été un contributeur secondaire au génome du pommier domestique actuel, à tel point que ce dernier est actuellement plus proche génétiquement du pommier sauvage européen que de son ancêtre original le pommier asiatique (Figure 3 ; Cornille et al., 2012a, 2012b, 2014 ; Feurtey, 2016).

Parmi cette diversité de *Malus*, seul *M. domestica* assure la production de pommes commercialisables avec plus de 10 000 variétés (Juniper et Mabblerley, 2006). Cependant, la production mondiale est principalement représentée par une dizaine de variétés telles que 'Fuji', 'Delicious', 'Golden Delicious' ou encore 'Gala' (Giraud et al., 2014).

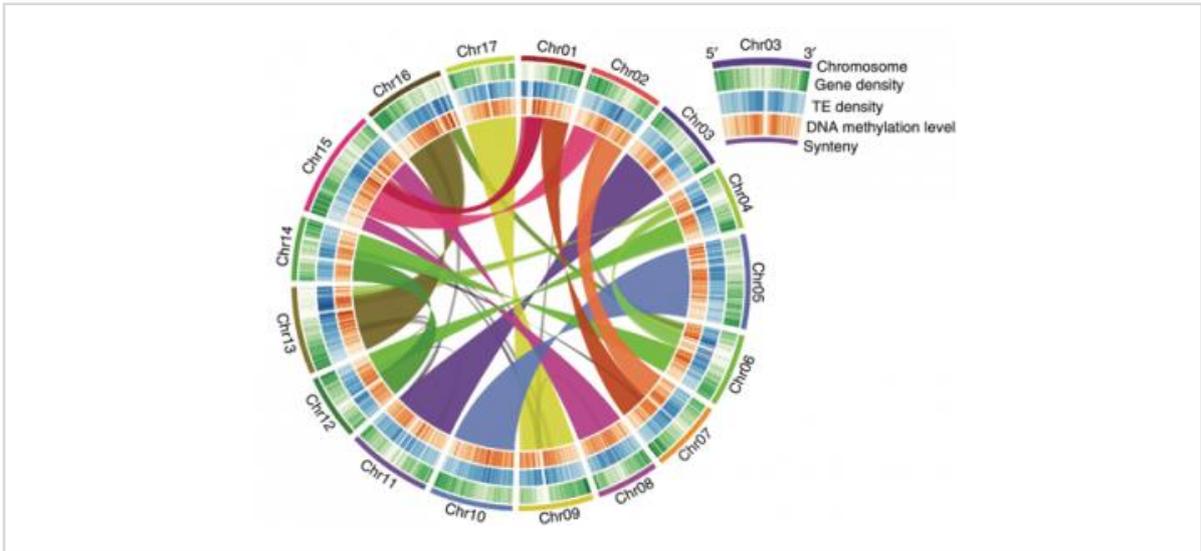


Figure 4. Schéma des 17 chromosomes du pommier (Daccord et al., 2017)

Les liens de couleurs entre les chromosomes représentent les régions dupliquées.

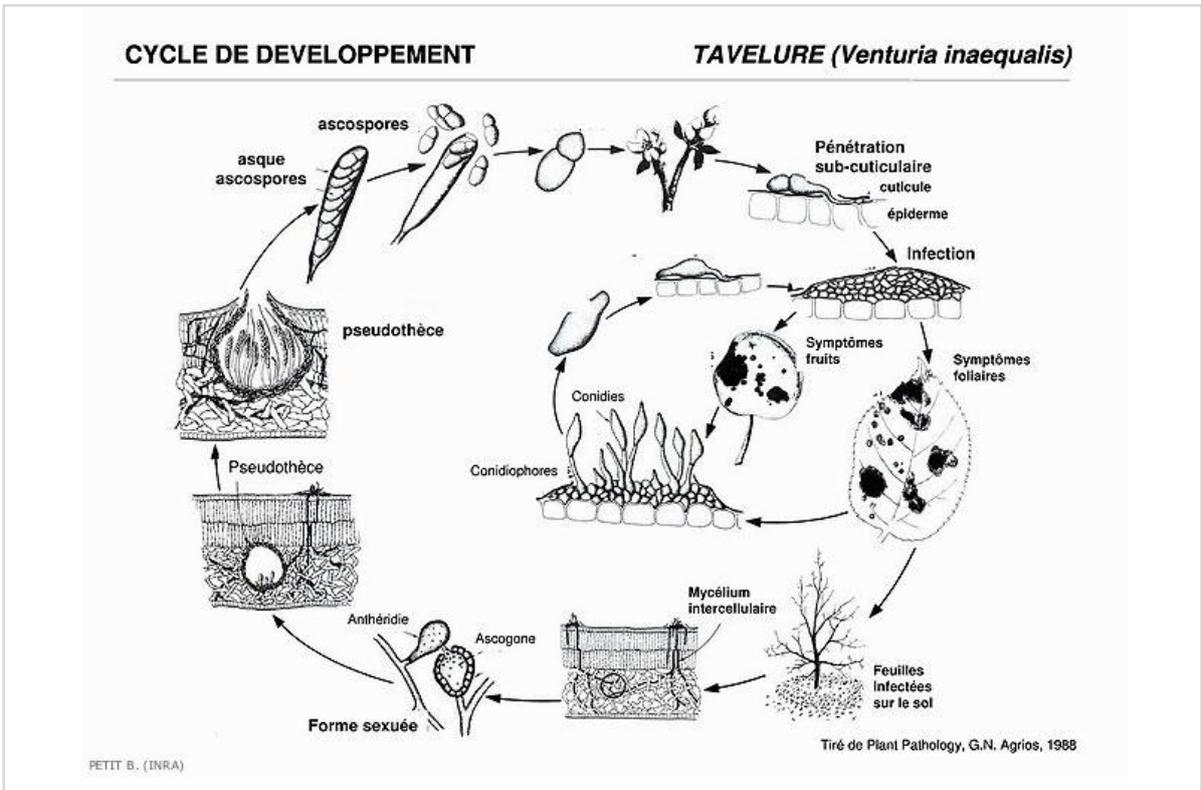


Figure 5. Schéma du cycle de *Venturia inaequalis* (agent responsable de la tavelure ; Ephytia INRAE)

Le génome du pommier domestique a été séquencé intégralement pour la première fois en 2010 par un consortium international de recherche (Velasco et al., 2010). Ce séquençage a abouti au décryptage d'une séquence de 740 millions de paires de bases, avec plus de 50 000 gènes identifiés. Depuis, trois autres séquençages ont permis d'améliorer les connaissances autour du génome de *M. domestica* (Daccord et al., 2017 ; Zhang et al., 2019 ; Brogini et al., 2020). Le génome a ainsi pu être assemblé en 17 pseudo-molécules, ce qui représente les 17 chromosomes du pommier (Figure 4). Ces 17 chromosomes dérivent d'une duplication complète du génome d'un ancêtre commun de la famille des Rosacées, ayant eu lieu il y a 13 à 27 millions d'années (Jung et al., 2012).

Les variétés de pommiers se répartissent selon deux groupes chromosomiques. La majorité des variétés est diploïde ($2n = 34$), bien qu'un nombre important de variétés anciennes soient triploïdes (environ 20% dans la collection française d'après Lassois et al. (2016).

Le pommier est une plante pérenne qui peut vivre plus de 100 ans, mais n'atteint jamais cet âge dans les vergers. Les arbres cultivés dans les vergers sont greffés sur des porte-greffes et sont généralement remplacés tous les 15-30 ans à cause de leur baisse de production (Hellier et al., 2000). Le pommier possède des feuilles vert foncé, caduques qui sont alternes, simples, entières et dentées sur les bords (Bretaudeau, 1978).

Cette espèce se reproduit par reproduction sexuée et ces fleurs sont hermaphrodites à floraison centrifuge. Les fleurs de pommiers ont une forte tendance à l'allogamie. Celle-ci est due, soit à une stérilité du pollen, soit à une auto-incompatibilité de type gamétophytique (Trillot et al., 2002).

Comme évoqué précédemment, la culture de pommiers est une culture sensible à de multiples bioagresseurs, que ce soit des ravageurs (pucerons, carpocapse, hoplocampe) ou des maladies (tavelure, oïdium, feu bactérien). Parmi ces dernières, la tavelure représente le plus grand défi des pomiculteurs pouvant entraîner des pertes de récolte atteignant jusqu'à 70 %.

b. Venturia inaequalis

Venturia inaequalis est l'agent pathogène responsable de la tavelure du pommier (MacHardy, 1996). Il s'agit d'un champignon hémibiotrophe et hétérothallique (Bowen et al., 2011) qui possède un génome haploïde basé sur 7 chromosomes (Shiller et al., 2015 ; Deng et al., 2017). Ce champignon est originaire d'Asie centrale, comme son hôte (Gladieux et al., 2008), et se retrouve aujourd'hui sur presque la totalité des régions où les pommes sont cultivées, et particulièrement dans les zones tempérées avec un climat frais et humide au début du printemps (MacHardy, 1996). *Venturia inaequalis* survit pendant l'automne et l'hiver sur des feuilles mortes contaminées dans la litière de feuilles au sol (Figure 5). Il se reproduit alors de manière sexuée, via la formation de pseudothèces qui contiennent les ascospores (spores sexuelles maintenues au sein des asques ; c'est l'inoculum primaire).

Au printemps, les pluies libèrent les ascospores, ce qui coïncide avec le débourrement et le déploiement des feuilles du pommier (Brook, 1976; MacHardy et Gadoury, 1986). Les spores sexuées germent alors sur les jeunes feuilles de pommier, c'est le début de l'infection.



Figure 6. Symptômes de sensibilité à *Venturia inaequalis* sur fruit (A) et sur feuille (B) en verger (image interne IRHS)

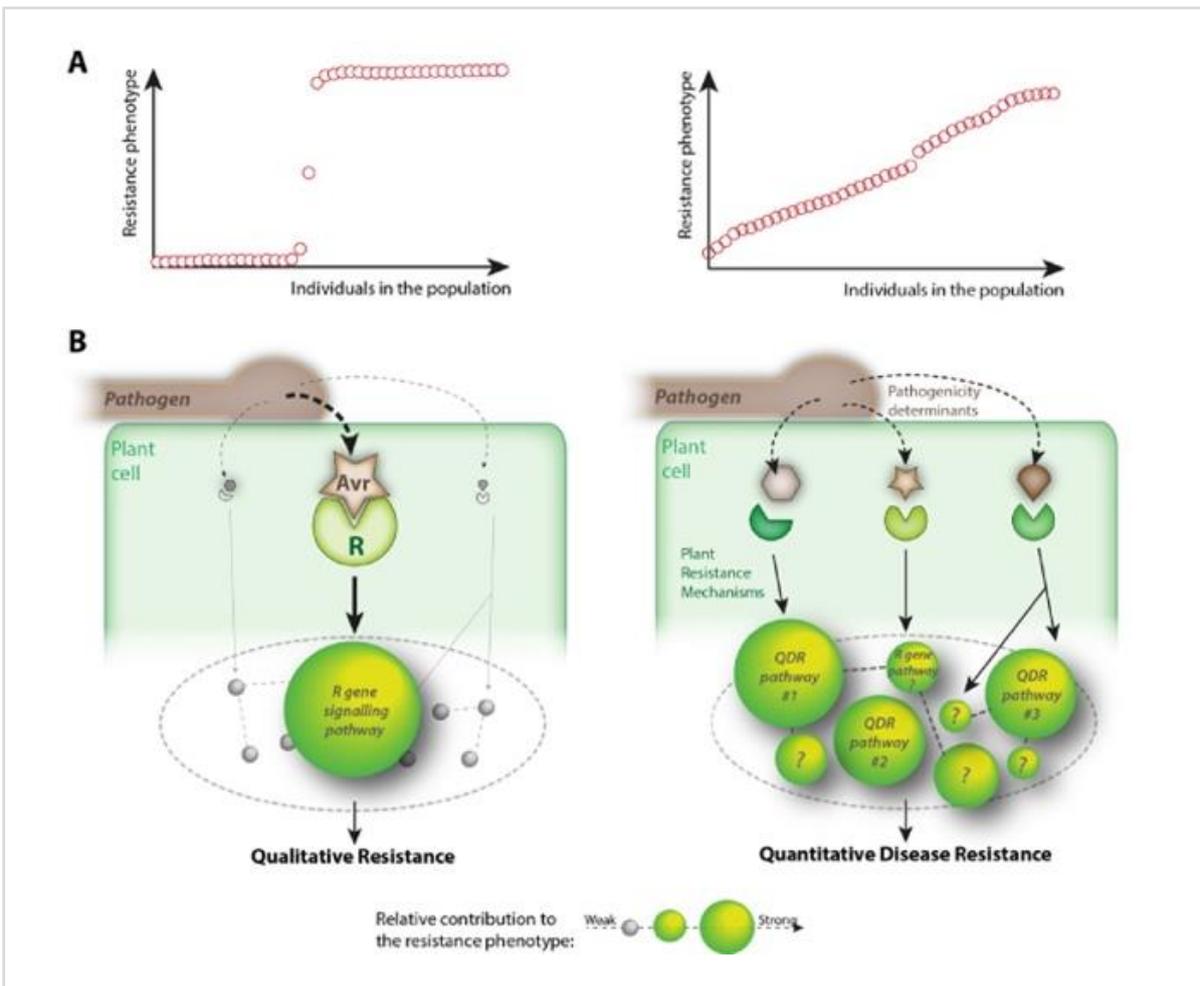


Figure 7. Schéma représentant la dualité qualitative-quantitative de la résistance aux maladies des plantes du point de vue de la biologie des populations et de la biologie moléculaire (Roux et al., 2014).

La figure illustre la nature qualitative (panneaux de gauche) et quantitative (panneaux de droite) de la résistance. Du point de vue de la biologie des populations (A), le phénotype de résistance aux maladies suit une distribution binaire « sensible ou résistance » pour la résistance qualitative, mais une distribution continue de la sensibilité vers la résistance pour la résistance quantitative. D'un point de vue de la biologie moléculaire (B), la résistance qualitative résulte de la perception d'un seul effecteur pathogène (Avr) par un gène de résistance de la plante (R), alors que la résistance quantitative résulte de l'intégration de plusieurs voies de perception activées simultanément, chacune ayant une contribution relativement mineure au phénotype global de résistance. QDR, résistance quantitative aux maladies.

Les spores de *V. inaequalis* adhèrent à la surface de la feuille et leurs tubes germinaux pénètrent par la cuticule directement ou par l'intermédiaire d'un appressorium (Keitt et Jones, 1926; Smereka et al., 1987). A la suite de la germination, le champignon se développe en mycélium sub-cuticulaire sur les feuilles puis sur les fruits ; c'est la phase parasitaire.

Ce mycélium sub-cuticulaire conduit à la formation de conidiophores permettant au champignon de se reproduire de manière asexuée sous la forme de conidies (spore asexuée ; c'est l'inoculum secondaire). Ces conidies sont ensuite dispersées grâce au vent et à la pluie, permettant au champignon de se propager à d'autres arbres du verger (Bowen et al., 2011).

Cette sporulation est à l'origine des symptômes caractéristiques visibles sur les feuilles et les fruits (Figure 6). Sur la surface supérieure des feuilles, elle provoque des lésions gonflées circonscrites et brunâtres, entraînant une rupture de la cuticule et potentiellement un affaiblissement général de l'arbre. Sur les fruits, une déformation et des taches liégeuses sont observables (Gessler et al., 2006). Ces symptômes représentent la principale perte commerciale pour l'arboriculteur puisqu'ils rendent les fruits impropres à la vente pour des raisons esthétiques et gustatives.

Pour ces raisons, des traitements chimiques sont majoritairement utilisés dans le but d'endiguer la maladie. Cependant leur utilisation est de plus en plus remise en question pour des raisons de préservation de la santé environnementale et humaine. La recherche de leviers alternatifs est actuellement en émulation, notamment sur le plan du développement des résistances génétiques durables.

4. Deux types de résistances génétiques et mécanismes moléculaires sous-jacents

Lors de la rencontre d'un agent pathogène et d'une plante, deux types d'interactions se distinguent (Figure 7) : (i) une interaction incompatible correspondant à une résistance dite qualitative chez la plante (ii) et une interaction compatible correspondant à une résistance quantitative de la plante (Roux et al., 2014 ; Niks et al. 2015 ; Corwin et Kliebenstein, 2017). Les deux types de résistances se distinguent en fonction de la distribution des phénotypes de résistance à la maladie (bimodale versus continue) et par le nombre de loci impliqués dans la résistance (monogénique versus polygénique).

a. La résistance qualitative

La résistance qualitative correspond à une résistance totale ou complète (qui empêche entièrement la reproduction de l'agent pathogène) issue d'un seul gène majeur à effet fort (dit gène R ; Van der Plank, 1968). Les individus issus d'un croisement entre un parent sensible et un autre résistant (à l'état hétérozygote) produisent une distribution phénotypique discontinue avec deux classes discrètes d'individus résistants et sensibles.

De nombreux gènes R ont déjà été identifiés et caractérisés, permettant une bonne compréhension des mécanismes moléculaires (Poland et al., 2009). Ces gènes codent généralement pour des protéines qui reconnaissent les effecteurs pathogènes ou les modifications des protéines végétales qui sont ciblées par ces effecteurs.

Tableau 2. Gènes de résistance à la tavelure chez le pommier et leur gène d'avirulence correspondant chez *Venturia inaequalis* (Khajuria et al, 2018)

S. no.	Differential host/source accession	Previous name (R locus)	New name (R Locus)	Chr	Resistance reaction	Corresponding avirulence gene
1.	Royal Gala	–	–	–	Susceptible	–
2.	Golden Delicious	<i>Vg</i>	<i>Rvi1</i>	12	Necrosis	<i>AvrRvi1</i>
3.	TSR34T15	<i>Vh2</i>	<i>Rvi2</i>	2	Stellate necrosis	<i>AvrRvi2</i>
4.	Geneva ^a	<i>Vh3.1</i> ^b	<i>Rvi3</i>	4	Stellate necrosis	<i>AvrRvi3</i> ^c
5.	TSR33T239	<i>Vh4 = Vx = Vr1</i>	<i>Rvi4</i>	2	Hypersensitive response	<i>AvrRvi4</i> ^c
6.	9-AR2T196	<i>Vm</i>	<i>Rvi5</i>	17	Hypersensitive response	<i>AvrRvi5</i>
7.	Priscilla	<i>Vf</i>	<i>Rvi6</i>	1	Chlorosis	<i>AvrRvi6</i>
8.	<i>Malus × floribunda</i> 821 ^a	<i>Vf_h</i>	<i>Rvi7</i>	8	Hypersensitive response	<i>AvrRvi7</i>
9.	4B5	<i>Vh8</i>	<i>Rvi8</i>	2	Stellate necrosis	<i>AvrRvi8</i>
10.	K2,	<i>Vdg</i>	<i>Rvi9</i>	2	Stellate necrosis	<i>AvrRvi9</i>
11.	A723–6 ^a	<i>Va</i>	<i>Rvi10</i>	1	Hypersensitive response	<i>AvrRvi10</i>
12.	A722–7	<i>Vbj</i>	<i>Rvi11</i>	2	Stellate necrosis/chlorosis	<i>AvrRvi11</i> ^c
13.	Hansen's baccata #2 ^a	<i>Vb</i>	<i>Rvi12</i>	12	Chlorosis	<i>AvrRvi12</i> ^c
14.	Durello di Forli	<i>Vd</i>	<i>Rvi13</i>	10	Stellate necrosis	<i>AvrRvi13</i>
15.	Dülmener Rosenapfel ^a	<i>Vdr1</i>	<i>Rvi14</i>	6	Chlorosis	<i>AvrRvi14</i>
16.	GMAL 2473	<i>Vr2</i>	<i>Rvi15</i>	2	Hypersensitive response	<i>AvrRvi15</i> ^c
17.	MIS op 93.051 G07 ^a	<i>Vmis</i>	<i>Rvi16</i>	3	Hypersensitive response	<i>AvrRvi16</i> ^c
18.	Antonovka APF22 ^a	<i>Va1</i>	<i>Rvi17</i>	1	Chlorosis	<i>AvrRvi17</i> ^c
19.	1980-015-025 ^a	<i>V25</i>	<i>Rvi18</i>	11	Hypersensitive response	<i>AvrRvi18</i> ^c
20.	Honeycrisp ^a	–	<i>Rvi19</i>	1	All classes of resistance reactions	<i>AvrRvi19</i> ^c
21.	Honeycrisp ^a	–	<i>Rvi20</i>	15	All classes of resistance reactions	<i>AvrRvi20</i> ^c

^a Un hôte différentiel temporaire jusqu'à ce qu'une nature monogénique du gène de résistance soit confirmée ou qu'un cultivar monogénique soit généré

^b *Vh3.4* peut être le vrai *Rvi3*

^c Le gène de l'avirulence n'a pas encore été identifié

En outre, d'autres mécanismes de résistance qualitative ont été identifiés, tels que la détoxification des toxines fongiques, la modulation de la réponse de défense et la régulation transcriptionnelle (Poland et al., 2009).

Chez le pommier, 20 gènes majeurs de résistance à la tavelure ont été identifiés et sont résumés dans le Tableau 2 provenant de Khajuria et al., (2018).

La majorité des gènes de résistance aux maladies actuellement déployés dans les programmes de sélection pommier proviennent à l'origine des espèces sauvages de *Malus*, comme *M. floribunda* (*Vf*), *M. micromalus* (*Vm*), et *M. baccata* (*Vb*).

Ces gènes R peuvent être classés et regroupés selon trois classes de réactions de résistance foliaire : (i) la réponse d'hypersensibilité dans laquelle la croissance fongique est interrompue rapidement lors de la pénétration, (ii) les réponses impliquant une croissance sous-cutanée limitée en induisant une nécrose, (iii) et enfin la réaction de chlorose (Bowen et al., 2011). Ces distinctions de réactions foliaires visuelles reflètent des différences dans les cascades de signalisation des défenses et des réactions induites.

Cependant, la résistance induite par ces gènes majeurs peut être contournée par le développement de nouvelles races de tavelure adaptées (Williams and Brown, 1968 ; Roberts and Crute, 1994 ; Bénaouf and Parisi, 2000). Un bon exemple est la variété « Golden Delicious » (contenant le gène de résistance *Vg/Rvi1*), qui était résistante à la tavelure au début des années 1900, mais qui est aujourd'hui l'une des plus sensibles sur le marché (Gessler et al., 2006). De même, le gène *Vf/Rvi6* qui est présent chez plus de 80 % des variétés résistantes à la tavelure inscrites dans le monde, a été contourné par une nouvelle race de *V. inaequalis* (Parisi, 1993).

b. La résistance quantitative

La résistance quantitative, quant-à-elle, fait référence à une résistance incomplète (permettant la reproduction de l'agent pathogène) qui se base sur l'effet de plusieurs gènes à effets faibles ou modérés (Van der Plank, 1968). Dans une descendance, la distribution phénotypique est alors continue, avec des individus plus ou moins sensibles/résistants. Ayant des effets mineurs, il est difficile d'identifier directement les gènes sous-jacents responsables de la résistance. C'est pourquoi, on identifie généralement des régions génomiques plus larges qui contiennent le gène causal et nommées QTL pour Quantitative Trait Loci.

Bien qu'ils soient plus difficilement identifiables, des hypothèses quant aux mécanismes de résistances sous-jacents ont été émises par différentes études et résumées dans Poland et al. (2009) :

- (i) Les QTLs pourraient être conditionnés par des gènes régulant les phénotypes morphologiques et développementaux des plantes.
- (ii) Ils représenteraient des mutations ou différents allèles de gènes impliqués dans la défense basale des plantes (gènes impliqués dans la reconnaissance de caractéristiques pathogènes communes).

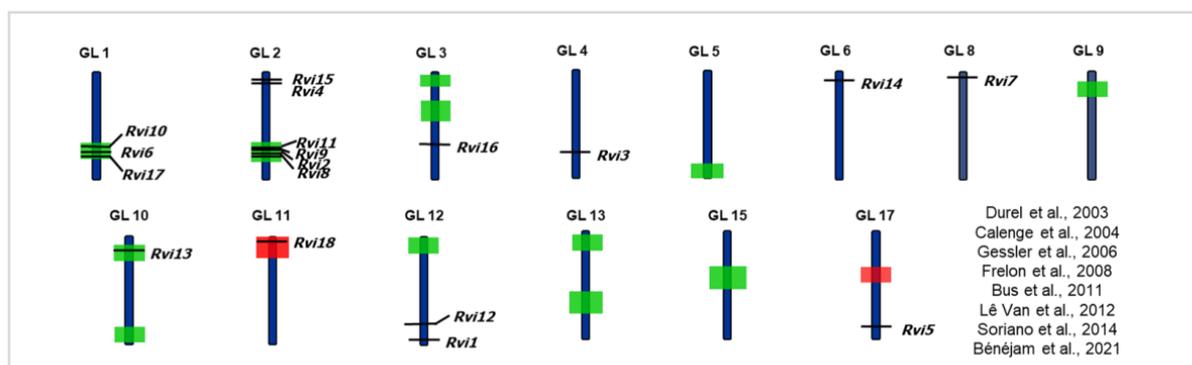


Figure 8. Carte génétique schématique représentant les gènes majeurs et QTLs détectés pour la résistance du pommier à la tavelure (source interne IRHS créée par Charles-Eric DUREL et mis à jour par Romane LAPOUS)

Les gènes majeurs sont représentés par des lignes noires et les QTLs par des rectangles verts ou rouges s'ils sont respectivement spécifiques d'un ou de quelques isolats ou s'ils sont à large spectre. GL : groupe de liaison.

Tableau 3. Paramètres associés aux locus de caractères quantitatifs (QTLs) identifiés pour la résistance à la tavelure (expériences Vi-B04, Vi-B04qT1-, et Vi-Z14) dans la descendance TxF d'après Bénéjam et al., 2021.

Trait	Linkage group	Position	LOD ^a	R ²	CI ^b
Vi-B04	T1	43.00	77.1	69.9	41.01-44.23
	T13	3.58	6.3	2.8	0.00-6.80
	F11	6.00	8.9	7.7	0.00-20.98
	<i>F12</i>	<i>4.00</i>	<i>3.3</i>	<i>0.6</i>	<i>0.00-6.87</i>
	F17	18.92	16.7	12.8	16.52-20.90
Vi-B04 qT1-	T13	3.58	8.6	9.3	0.00-6.80
	<i>F3</i>	<i>13.36</i>	<i>5.7</i>	<i>5.5</i>	<i>8.25-18.54</i>
	F11	5.00	10.7	18.1	0.00-20.98
	F12	15.99	3.0	3.7	20.46-31.56
	F17	18.92	29.0	29.0	16.52-27.35
Vi-Z14	T1	45.03	9.4	10.7	39.01-52.89
	<i>T10</i>	<i>62.09</i>	<i>3.6</i>	<i>3.5</i>	<i>54.88-65.69</i>
	T13	3.18	10.9	10.1	0.00-6.80
	F3	3.92	5.1	5.3	0.00-9.03
	F11	5.53	7.8	7.9	0.00-20.98
	F17	18.92	9.1	10.7	14.18-27.35

^a Des LOD seuils ont été obtenus après permutations ($n = 1\ 000$) : 5,5 (Vi-B04), 5,1 (Vi-B04qT1-), 5,0 (Vi-Z14). Les QTLs significatifs sont indiqués en gras. Les QTLs suggestifs avec un score LOD entre 3,0 et le LODseuil sont indiqués en italique. R² : pourcentage d'explication de la variance phénotypique expliquée par le QTL ; IC : intervalle de confiance.

^b Intervalle de confiance du QTL calculé avec le LOD-2.

- (iii) Il pourrait également s'agir de composants de la lutte chimique entre les plantes et les agents pathogènes (enzymes et molécules détoxifiantes produites par les plantes).
- (iv) Les QTLs seraient impliqués dans la transduction du signal de défense des plantes.
- (v) Ils pourraient être considérés comme des formes faibles ou partielles des gènes R, mais la distinction entre les deux n'est pas toujours claire.
- (vi) Enfin les QTLs pourraient être constitués d'un ensemble unique de gènes impliqués dans la résistance aux maladies, qui n'ont pas encore été identifiés ni caractérisés.

Chez le pommier, plusieurs études se sont déjà penchées sur la caractérisation des résistances quantitatives et au total 14 QTLs ont été mis en évidence (Figure 8 ; Durel et al. 2003 ; Calenge et al., 2004 ; Bus et al., 2011 ; Lê Van et al., 2012 ; Bénéjam et al., 2021 ; Gessler et al., 2006 ; Soufflet-Freslon et al., 2008 ; Soriano et al., 2014).

Parmi ces différentes études, dans la plus récente, Bénéjam et ses collaborateurs (2021) ont identifié ou précisé sept de ces QTLs dans une descendance F1 issue du croisement contrôlé 'TN10-8' x 'Fiesta', deux génotypes partiellement résistants à la tavelure. Les individus de cette descendance ont été testés avec deux souches de *V. inaequalis* (Vi-B04 et Vi-Z14), permettant la détection de : qT1, qT10 et qT13 respectivement sur les groupes de liaisons 1, 10 et 13 de TN10-8, ainsi que qF3, qF11, qF12 et qF17 sur les groupes de liaison 3, 11, 12 et 17 de Fiesta (Tableau 3).

La souche 'Vi-B04' a permis de mettre en évidence l'effet majeur de qT1 au détriment de l'identification des autres QTLs à effets intermédiaires ou faibles. Pour y pallier, l'analyse a été répétée en sélectionnant les individus non porteurs de qT1 (Vi-B04 qT1-) et une seconde expérimentation a été réalisée avec une souche contournant qT1 (Vi-Z14), afin de mieux détecter les QTLs moins forts.

Les QTLs localisés sur le groupe de liaison (LG) 1 de TN10-8 (qT1) et LG11 et LG17 (qF11 et qF17) de 'Fiesta' avaient déjà été détectés par différentes études (Calenge et al., 2004 ; Durel et al., 2003 ; Lê Van et al. 2012; Liebhard et al., 2003 ; Soufflet-Freslon et al., 2008). Cependant, de nouveaux QTLs de résistance à la tavelure ont été détectés sur les LG 10 et 13 de 'TN10-8' et les LG 3 et 12 de 'Fiesta'. Les plus significatifs étant qT13 et qF3.

Parmi les QTLs identifiés dans cette étude, qT1 est dit à fort effet puisqu'il induit une résistance élevée fortement liée à la chlorose et nécrose (Laloi et al., 2017). Il a été colocalisé avec le gène majeur *Rvi6* (*Vf*) identifié dans la même région, en accord avec d'autres études (Calenge et al., 2004 ; Lê Van et al., 2012). Il a ainsi été émise l'hypothèse que qT1 serait un allèle ou un paralogue potentiel de *Rvi6* et correspondrait en conséquence à un gène codant pour une protéine de type récepteur extracellulaire avec des motifs répétés riches en leucine (LRR). Il serait alors impliqué dans la reconnaissance des effecteurs pathogènes ou des modèles moléculaires associés aux pathogènes (Belfanti et al. 2004 ; Calenge et al. 2004).

D'autres QTLs, comme qF11 et qF17, ont montré un spectre d'actions très large car détectés vis-à-vis de l'infection de différentes souches de *V. inaequalis* ; à l'inverse de QTLs spécifiques à une ou deux souches (Calenge et al. 2004 ; Soufflet-Freslon et al. 2008 ; Lê Van et al. 2012). Ces QTLs montrent également un effet synergique significatif : effet épistatique favorable (Caffier et al., 2014). Ce type d'interaction pourrait refléter une action complémentaire de deux gènes engagés successivement dans une voie métabolique (McMullen et al., 1998).

Au final, le travail de Bénéjam et al., (2021) a permis l'affinement des positions génétiques des QTLs déjà identifiés dans la littérature (qT1, qF11, qF17) et la découverte de deux nouveaux QTLs significativement impliqués dans la résistance à la tavelure (qF3 et qT13). Néanmoins, bien que réduits, les intervalles de confiance de ces QTLs étaient encore trop larges pour rechercher des gènes sous-jacents et étudier les mécanismes moléculaires impliqués dans la résistance.

c. La construction de résistances plus durables

Les gènes majeurs expliquent, en général, davantage la variation phénotypique que les gènes mineurs et sont également plus facilement manipulables en sélection (Poland et al., 2009 ; Roux et al., 2014). Cependant, ce type de résistance impose une pression de sélection intense sur les populations d'agents pathogènes menant souvent au contournement des résistances monogéniques en particulier pour les pathosystèmes impliquant des agents pathogènes avec un fort pouvoir évolutif (McDonald et Linde, 2002) ; c'est le cas pour *Venturia inaequalis* qui combine les deux modes de multiplication (reproduction sexuée et multiplication végétative). A l'inverse, la résistance de type quantitative tend à être plus durable que la résistance induite par les gènes R (Parlevliet, 2002). En effet, là où les gènes R qui sont contournés donnent un haut pouvoir de dissémination à l'agent pathogène, les gènes mineurs érodés, eux, ne donnent qu'un avantage marginal aux agents pathogènes qui les contournent, et la nature souvent polygénique de la résistance quantitative nécessite une érosion simultanée des différents gènes et mécanismes impliqués pour que l'érosion soit forte.

Actuellement, la recherche s'oriente justement vers la construction de résistances plus durablement efficaces, c'est-à-dire « des résistances qui demeurent efficaces lorsqu'elles sont utilisées dans une grande zone de culture sur une longue période de temps dans des environnements favorables au développement de maladies » (Johnson, 1981). Pour ce faire, il est nécessaire d'utiliser davantage les QTLs mais aussi de diversifier et de pyramider des mécanismes moléculaires différents et complémentaires *via* l'utilisation couplée des gènes majeurs et des QTLs de résistance. Le but étant également de superposer des QTLs possédant des mécanismes moléculaires indépendants voire complémentaires. L'intérêt est de pyramider ces différents types de résistances afin d'obtenir des individus résistants et de limiter la sélection des isolats d'agents pathogènes virulents. Cette technique est considérée comme l'alternative la plus durable en termes de protection des plantes (Laloi et al., 2017 ; Pilet-Nayel et al., 2017).

5. Problématique

La tavelure est un champignon très problématique pour la culture de pommes et l'utilisation des traitements chimiques ne peut plus être la seule option pour combattre la maladie. Le déploiement des résistances génétiques a permis d'apporter une première solution, mais en raison du contournement des résistances qualitatives à la tavelure chez le pommier, le développement de variétés contenant des résistances plus durables apparaît comme nécessaire, d'autant plus que le pommier est une espèce pérenne installée pour 15-30 ans en général. C'est pourquoi, aujourd'hui, le pyramidage de différents types de résistances (qualitative et quantitative) mais également de différents mécanismes moléculaires au sein d'un même génotype représentent un enjeu majeur. Cependant, cette approche nécessite une meilleure compréhension des fonctions liées aux Quantitative Trait Loci (QTL).

Dans ce but, nous nous proposons d'identifier les gènes candidats sous-jacents aux QTLs de résistance ségrégant dans une population en descendance.

Tableau 4. Conditions sous serre en fonction de la période de l'expérimentation

	Température	Luminosité	Aération	Brumisateur
<i>Conditions régulières</i>	23°C en journée 20°C la nuit	Naturelle + artificielle si nécessaire	Activée si nécessaire	Désactivé
<i>Matin de l'inoculation</i>	17°C	Aucune	Activée	Activé (80% d'humidité)
<i>Moment de l'inoculation jusqu'au débâchage</i>	17°C	Aucune	Activée	Désactivé
<i>48h après inoculation jusqu'aux dernières notations</i>	17°C	Aucune	Activée	Activé

Afin de réduire les intervalles de confiance des QTLs de résistance à la tavelure qT1, qF3, qF11, qT13 et qF17, près de 1970 individus ont été analysés lors de ce stage. Ces descendants ont été génotypés au niveau des QTLs d'intérêt et ont également été phénotypés pour leur sensibilité et leur résistance à la tavelure. Grâce à ces informations, des cartes génétiques ont été construites, permettant la détection de QTLs par analyse de liaison. Les gènes sous-jacents ont pu être dénombrés et, grâce aux annotations des gènes, un inventaire des fonctions sous-jacentes a pu être effectué.

II- Matériels et méthodes

1. Matériel végétal

Les expérimentations ont été menées sur une descendance (1970 individus), nommée « descendance TxF » ou « Famille F », qui est issue du croisement des parents 'TN10-8' et 'Fiesta', chacun porteur d'allèles de résistance à la tavelure. Ce croisement a été effectué dans le cadre du projet européen DARE (Durable Apple Resistance in Europe, datant de 1998-2002), et les pépins étaient stockés à -20°C.

'Fiesta', variété commerciale, est issue du croisement entre les variétés 'Cox's Orange Pippin' (faible sensibilité à la tavelure) et 'Idared' (forte sensibilité à la tavelure). 'Fiesta' porte des allèles de résistance aux QTLs qF3, qF11 et qF17. Quant à 'TN10-8', il s'agit d'un hybride issu du croisement de la variété 'Reinette Clochard' avec un descendant de la variété russe 'Schmidt's Antonovka P.I.172632' (bonne résistance à la tavelure). Ce génotype est porteur des allèles de résistance aux QTLs qT1 et qT13.

2. Dispositif expérimental

L'expérimentation a consisté à l'inoculation de *V. inaequalis* (agent pathogène responsable de la tavelure), à trois reprises, sur les individus de la descendance et à la notation des symptômes de sensibilité et de résistance dans le but de mener une détection de QTLs.

a. Conditions de croissance des plantes

Plus de 2000 pépins ont été semés en décembre 2022, et 1970 individus ont germé et ont été gardés en pots de 1L avec un substrat approprié à l'arrosage par sub-irrigation et mis en conditions expérimentales semi-contrôlées. Le substrat était composé de perlite moyenne (40%), de tourbe blonde balte B1 (25%), de tourbe blonde baltique 5/20 (25%), de fibre de coco (10%) et d'engrais organiques PG Mix 14-16-18 (1 Kg/m³).

Les conditions régulières du module étaient : 23°C en journée (luminosité naturelle et éventuellement complétée par de la lumière artificielle) et 20°C la nuit. Un système d'aération (appelé cooling) a été activé si nécessaire afin de maintenir une température inférieure à 30°C (Tableau 4).

Pour les expérimentations, chaque individu n'était présent qu'en une seule copie.

Pour les trois inoculations, les plants ont été mis en conditions favorables au développement de la tavelure. Le matin du traitement, la température de la serre a été baissée à 17°C avec

Tableau 5. Date, nombre de plantes concernées, souche utilisée, taux de germination de l'inoculum et phénotypes notés pour chacune des trois inoculations réalisées

	Inoculation 1	Inoculation 2	Inoculation 3
Date	Janvier	Mars	Mai
Nombre de plantes	1970 (ensemble de la descendance)	1970 (ensemble de la descendance)	1101 (recombinants sur au moins un groupe de liaison)
Souche inoculée	Vi-B04	Vi-Z14	Vi-Z14
Qualité de l'inoculum (taux de germination)	87%	87%	82%
Notes	Sporulation J14 et J21 Chlorose J14 Crispation J14	Sporulation J14 et J21	Sporulation J14 et J21

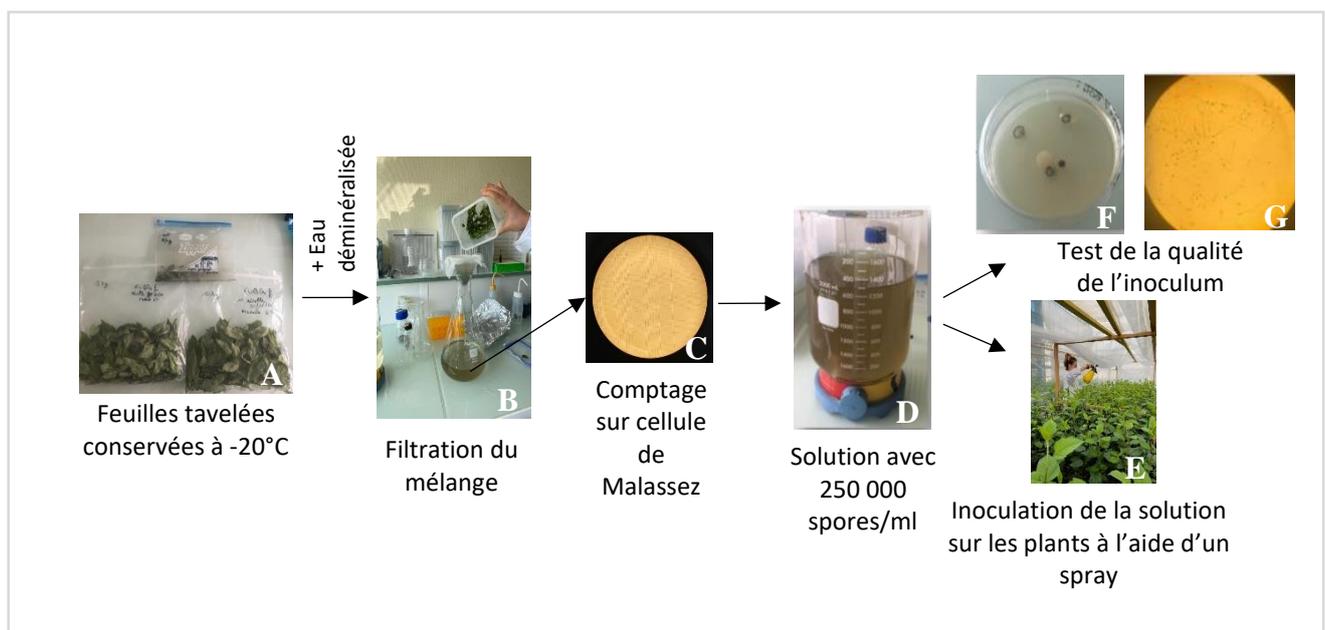


Figure 9. Protocole de création de la solution de spores de *Venturia inaequalis*

l'activation du cooling (aération) et du fog (brumisateuse) afin de maintenir l'hygrométrie autour de 80%. Les lumières ont été éteintes et les rideaux fermés (aucune lumière naturelle ou artificielle).

Au moment de l'inoculation, le fog a été coupé afin d'éviter la dilution de la solution de spores. A la fin de l'inoculation, les individus ont été bâchés afin de maintenir l'humidité pendant 48 heures. Après ces 48 heures, le fog a été remis en route.

Après débâchage et jusqu'au phénotypage, la serre a été maintenue à une température de 17°C, avec le cooling et le fog sans lumière.

Après chaque phénotypage, les plantes ont été rabattues et traitées contre la tavelure et remises en conditions régulières de croissance.

b. Stratégie et plan expérimental

Au total, ce sont trois inoculations successives qui ont été réalisées avec les deux souches de *V. inaequalis* utilisées dans les travaux de Bénéjam et al. (2021 ; Tableau 5). La première expérimentation a été effectuée avec la souche Vi-B04, originaire de Belgique, découverte sur l'hôte 'Golden Delicious', et décrite par Caffier et al. (2015) et Le Cam et al. (2019). Vi-B04 est une souche qui met en évidence qT1 (QTL à fort effet vis-à-vis de cette souche, qui ségrége dans la descendance), mais ce dernier tend à masquer les effets des autres QTLs ayant des effets davantage mineurs.

Afin de mieux étudier les autres QTLs pour la deuxième et troisième inoculation, c'est la souche Vi-Z14 qui a été utilisée car elle érode fortement qT1. Cette souche a été isolée en France sur un descendant de 'TN10-8' x 'Prima' (individu E063) et a été décrite dans Laloi et al. (2017) comme l'isolat '2557'.

Pour la première et deuxième expérimentation, l'ensemble de la population a été testée, soit 1970 individus. Les plants ont été répartis selon quatre blocs (tablettes) dans un module de serre.

La troisième inoculation nous permettait de réaliser une répétition de l'une des souches sur les individus recombinants sur au moins un groupe de liaison (soit 1101 répartis sur deux blocs). Le choix s'est porté sur la souche Vi-Z14 qui permettait une meilleure détection des QTLs dits mineurs.

c. Préparation de l'inoculum

Des feuilles tavelées des souches Vi-B04 et Vi-Z14 sont conservées au congélateur à -20°. Ces feuilles permettent la fabrication de la solution de spores qui a été pulvérisée sur les plants en serre. Pour préparer cette solution (Figure 9 A-G), les feuilles tavelées ont été mélangées avec de l'eau déminéralisée (Fig.9-A), permettant la mise en solution des spores. Ce mélange a été agité puis filtré (Fig.9-B). La concentration de la solution obtenue a été déterminée par comptage sur cellule de Malassez (Fig.9-C) et ajustée si nécessaire à 250 000 spores/ml. Une fois la solution obtenue (Fig.9-D), celle-ci a été mise dans un contenant à spray pour l'application en gouttelettes sur les plants en serre (Fig.9-E).

Afin de vérifier la qualité de l'inoculum, quelques gouttes de la solution ont été déposées sur une boîte de Pétri (milieu Cristomalt ; Fig.9-F). Cette boîte a été conservée pendant 24h dans une chambre climatisée, après quoi, une lecture du taux de germination au microscope a été possible et a consisté au comptage des spores germées et non germées (Fig.9-G). La qualité de l'inoculum a été très bonne pour chacune des expérimentations (> 80% de taux de germination ; Tableau 5).

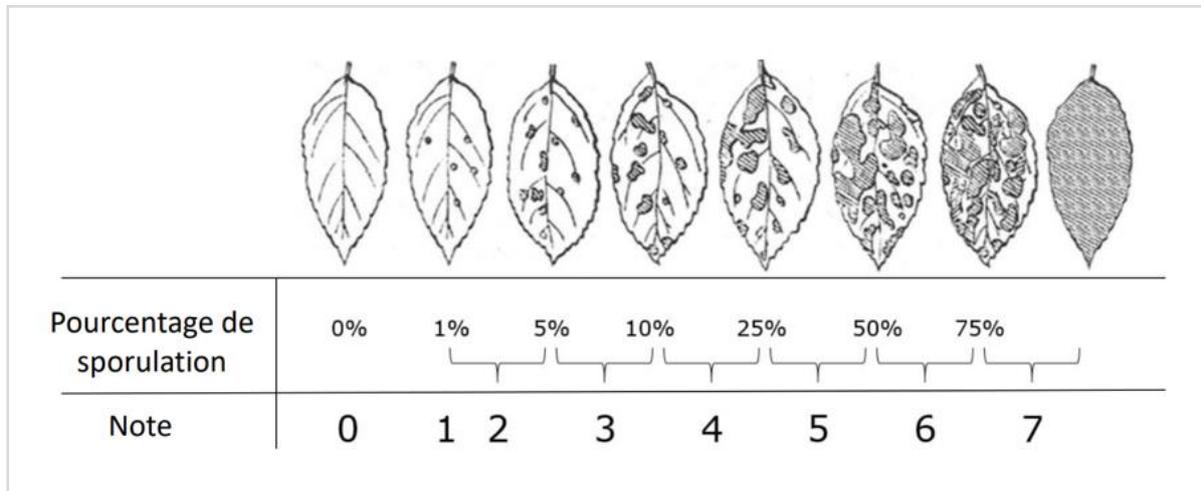


Figure 10. Échelle de notation de la sporulation : pourcentage de sporulation des feuilles inoculées à 14 et 21 jours après l'inoculation (Calenge et al., 2004)

Les notes sont attribuées comme suit : aucune sporulation visible (0), 1% de surface foliaire couvert de sporulation (1), de 1 à 5% (2), de 5 à 10% (3), de 10 à 25% (4), de 25 à 50% (5), de 50 à 75% (6) et de 75 à 100% (7).

Formule 1. Formule de calcul de l'AUDPC (Area Under Disease Progression Curve)

$$A_k = \sum_{i=1}^{N_i-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i)$$

Où y_i est le score de la maladie au i ème jour d'observation, et t_i est le nombre de jours après l'inoculation

d. Inoculation en serre

L'inoculation a été réalisée par pulvérisation de la solution contenant les spores sur les feuilles des plants, à raison de ~1,75 ml de solution par plante (Fig.9-E). Les tablettes ont ensuite été bâchées et fermées hermétiquement pendant deux jours afin de maintenir une humidité saturante pour favoriser la germination des spores de *V. inaequalis*. A 14 et 21 jours après inoculation, les lectures des symptômes ont été effectuées.

3. Acquisition et traitements des données de génotypage et phénotypage

a. Données de phénotypage

A 14 et 21 jours après-inoculation, les symptômes de résistance et de sensibilité à la tavelure ont été notés. En fonction de l'expérimentation et de la date, trois variables ont pu être décrites (Tableau 5) :

Symptôme de sensibilité (Annexe 1-A) :

- Note de sporulation de 0 à 7 (pourcentage de surface concernée de la feuille la plus symptomatique ; comme décrit dans Calenge et al. (2004 ; Figure 10)

Symptômes de résistance liés à qT1 (Annexe 1-B et C):

- Note de chlorose de 0 à 7 (pourcentage de surface concernée de la feuille la plus symptomatique ; adaptation de l'échelle de notation de la sporulation)
- Note de crispation de 0 à 7 (pourcentage de surface concernée de la feuille la plus symptomatique ; adaptation de l'échelle de notation de la sporulation)

Ces symptômes de résistance n'ont été notés que pour l'inoculation avec la souche Vi-B04 qui permet de mettre en évidence l'effet de qT1 puisqu'il s'agit de symptômes liés à ce QTL.

Grâce aux notes de sporulation à J14 et J21, une note d'AUDPC (Area Under Disease Progression Curve) a été calculée pour chaque individu. Il s'agit d'une valeur synthétique représentative du niveau d'attaque sur l'ensemble de l'épidémie puisqu'elle résume les notes de sporulation à J14 et J21 (Formule 1). Une moyenne ajustée a été calculée pour les variables issues des deux inoculations avec la souche Vi-Z14 par analyse de variance pour prendre en compte les effets expérimentaux.

Toutes les analyses statistiques ultérieures ont été réalisées sur le logiciel statistique R (version 2022.07.2+576). Les effets potentiels de l'environnement et de la notation (effet bloc et notateur) sur les différentes variables ont été testés par des ANOVAs (fonction *aov*, package *stats*) et tests *post-hoc* de Tuckey (fonction *tukey_hsd*, package *rstatix*) puis corrigés. Les mêmes analyses ont été utilisées pour étudier l'interaction épistatique qF11*qF17.

Les distributions et les corrélations (coefficient de corrélation de Pearson) entre variables ont été étudiées respectivement avec les fonctions *ggplot* du package *ggplot2* et *ggpairs* du package *GGally* et des ACP ont été générées avec la fonction *PCA* de *FactoMineR*.

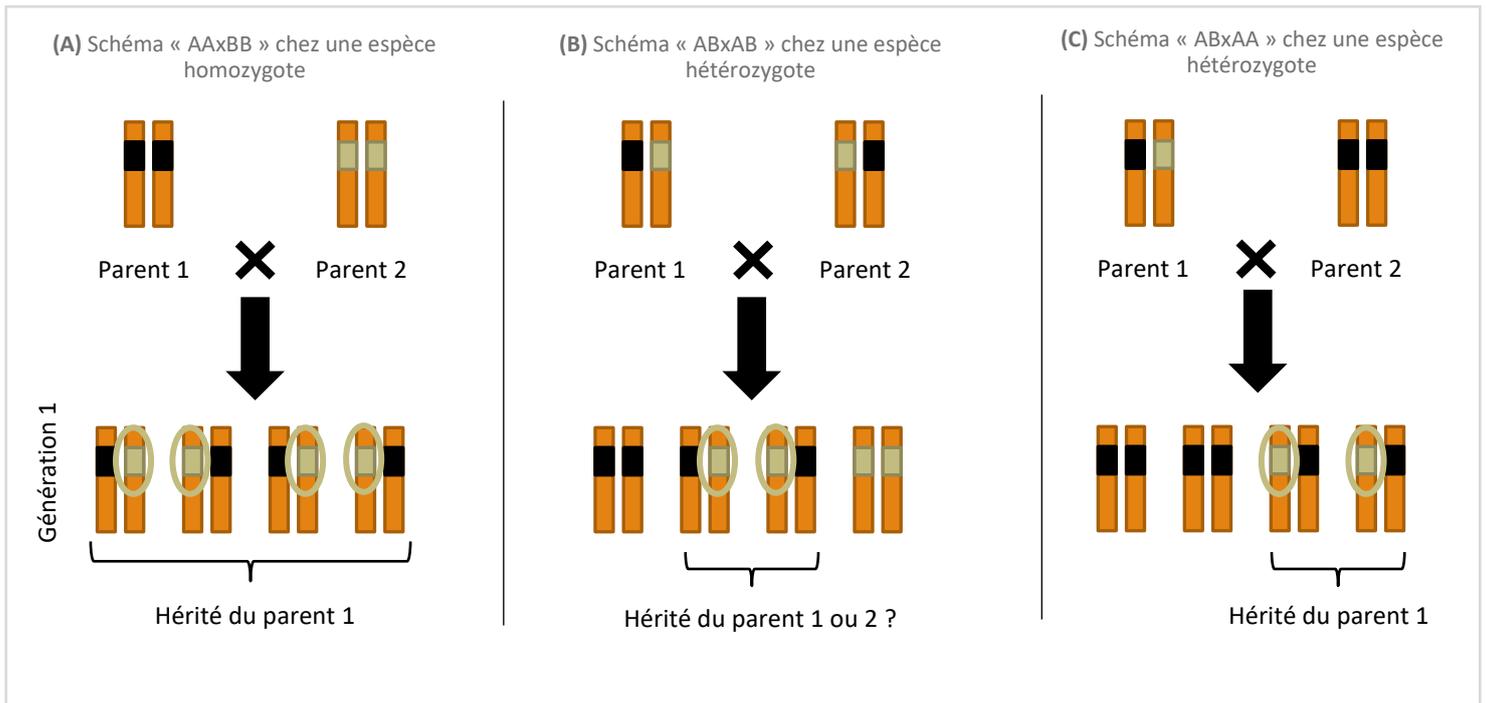


Figure 11. Différentes ségrégations attendues des marqueurs SNP en fonction du type d'espèce (homozygote ou hétérozygote ; adapté de Romane LAPOUS)

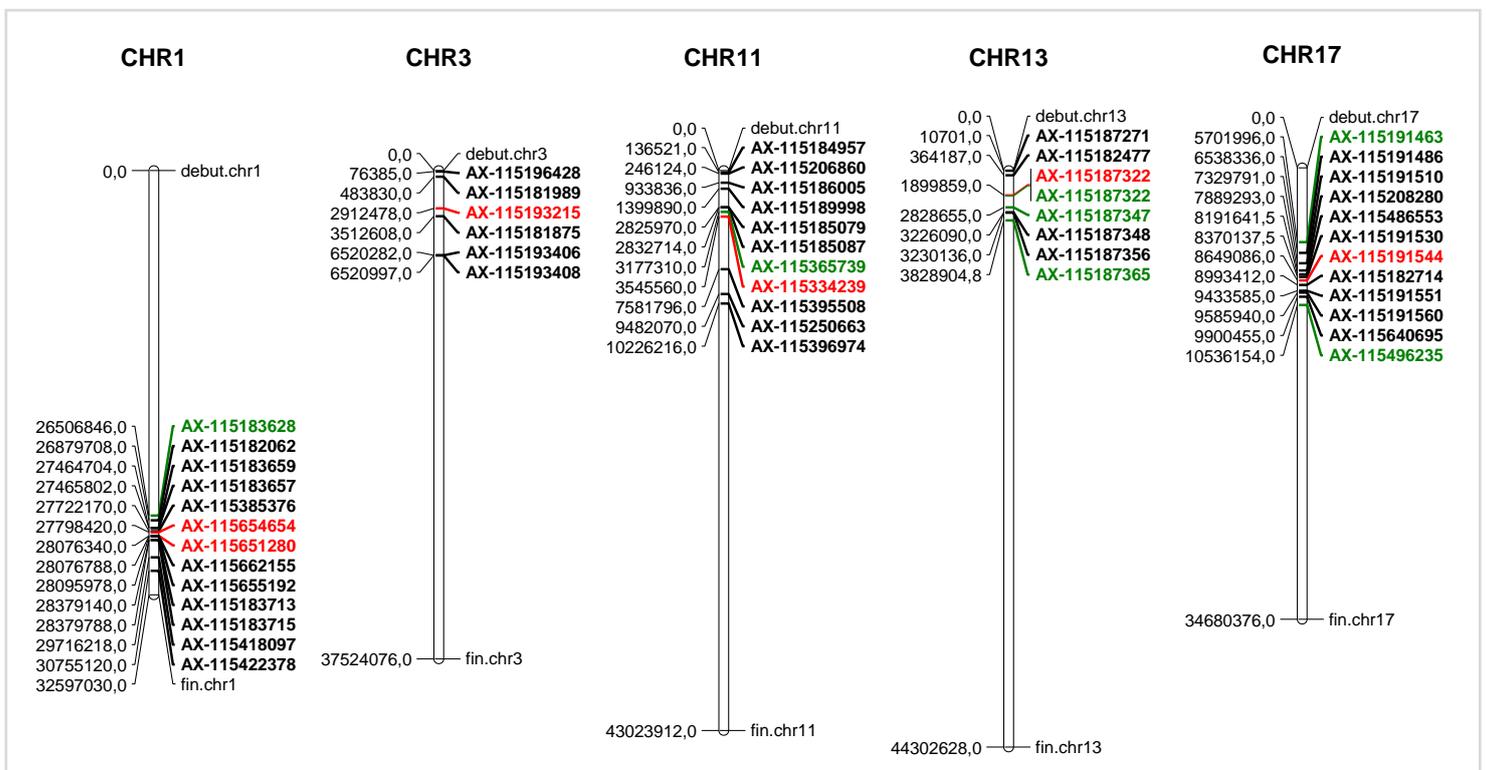


Figure 12. Carte physique des marqueurs SNPs utilisés pour le génotypage des individus de la descendance F

Les 43 marqueurs en noirs et rouges représentent le premier pool de marqueurs génotypés par l'entreprise LGC (UK). Les six marqueurs rouges ont été écartés (absence de clusterisation). Les sept marqueurs verts ont été rajoutés par la suite et génotypés sur le plateau ANAN (Université d'Angers) afin de densifier la carte génétique. Les marqueurs noirs et verts représentent donc le jeu de données final, soit 44 SNP.

b. Données de génotypage

(i) Le choix des marqueurs SNP chez les espèces fortement hétérozygotes comme le pommier

Les marqueurs SNP utilisés suivent une ségrégation en « AB x AA » pour le parent femelle (et « AA x AB » pour le parent mâle). De fait, chez le pommier, espèce fortement hétérozygote, les individus possèdent généralement deux copies différentes d'un même gène. Il n'est donc pas possible d'utiliser le même schéma que les espèces homozygotes, soit « AA x BB » (Figure 11-A). La situation « AB x AB » présente chez les espèces fortement hétérozygotes (Fig.11-B), ne nous permet pas de distinguer les deux allèles différents hérités des parents dans la descendance et de les associer aux variations phénotypiques observées. La situation de ségrégation la plus couramment utilisée est donc « AB x AA » (symétriquement « AA x AB ») (Fig.11-C), où l'un des parents est hétérozygote (AB) et l'autre est homozygote (AA). Cela permet ainsi de déterminer quels allèles spécifiques sont associés à des traits d'intérêt, car on observe les différences de ségrégation entre les génotypes hétérozygotes et homozygotes dans la descendance. Cependant, se plaçant chez une espèce hétérozygote, cela réduit le nombre de marqueur disponible.

(ii) Un premier set de 43 marqueurs

Pour le génotypage des individus, dans un premier temps une prestation a été engagée auprès de l'entreprise LGC Biosearch TechnologiesTM (Hoddesdon, UK). L'ensemble de la descendance, soit 1970 individus, a été échantillonné en utilisant le protocole et les kits « BioArkTM Leaf collection kit » provenant du prestataire. L'ADN a été extrait à partir des échantillons de jeunes feuilles fraîches envoyées. En plus de la descendance, 'TN10-8' et 'Fiesta' (les parents), 'Cox' (parent de 'Fiesta' qui apporte les allèles de résistances de qF11 et qF17) ont été génotypés ; ces individus représentent les témoins pour le clustering génétique des marqueurs mais n'ont pas été phénotypés.

Les individus ont été génotypés sur 43 marqueurs SNP répartis sur cinq chromosomes : 1, 3, 11, 13, 17 (marqueurs noirs et rouges sur la Figure 12). Pour les 43 SNP, les séquences contextes ont été extraites des puces SNP et blastées sur le génome de référence GDDH13v1.1 disponible sur le Jbrowse interne de l'INRAe (génome haploïde doublé « Golden Delicious » ; Daccord et al. 2017). Cette étape a permis l'identification de séquences plus larges entourant les SNP candidats, et de mettre en évidence des SNP additifs à proximité. Grâce à ces informations, les amorces ont été créées et testées par LGC Biosearch TechnologiesTM, avec pour chaque SNP deux amorces forward spécifiques de chaque allèle au SNP et une amorce reverse commune. Le génotypage a été réalisé avec la technologie KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR). Il s'agit d'un test basé sur la fluorescence qui permet une discrimination bi-allélique des SNP.

Après génotypage, les ADN des individus ont été renvoyés par l'entreprise prestataire à l'IRHS.

Un traitement des données a été effectué et a consisté au nettoyage global des données notamment grâce au logiciel SNPviewersTM. SNPviewerTM est un outil de LGC Biosearch TechnologiesTM qui permet de visualiser les données de génotypage sous forme de cluster plots. Des marqueurs ont été supprimés (passage de 43 à 37 marqueurs ; six marqueurs rouges sur la Figure 12) dû à l'absence de clusterisation sur le logiciel ; ceci peut être lié à la mauvaise hybridation des amorces (mauvais design de l'amorce, ou présence de beaucoup de SNP additionnels autour du SNP d'intérêt).

Des données manquantes ont été imputées manuellement quand cela était possible afin d'améliorer la qualité des données.

Grâce aux données de génotypage, les individus ont été classés par type pour chaque chromosome (recombinant ou parental). Au final, 1101 individus étaient recombinants sur au moins un chromosome, 772 étaient non recombinants et 97 ont été supprimés pour différentes raisons (données manquantes, contaminations, doubles recombinaisons).

Nous disposions donc d'une matrice génétique composée de 1970 individus et 36 marqueurs. Les cartes génétiques ont ensuite été construites pour chaque groupe de liaison avec le logiciel avec JoinMap 4.1 (Van Ooijen, 2011). Des premières analyses ont été effectuées sur ce jeu de données.

(iii) Enrichissement de sept marqueurs

Ces premières analyses ont révélé un besoin de densification des marqueurs sur certaines zones des chromosomes étudiés. Ainsi, 15 nouveaux marqueurs ont été sélectionnés dans les zones à densifier. Les séquences contextes de ces marqueurs ont, elles-aussi, été extraites des puces SNP et blastées sur le génome de référence GDDH13v1.1. Les amorces ont ainsi pu être conçues chez Eurofins Genomics (avec pour chaque SNP : deux forward et une reverse). Les tests des amorces et le génotypage des individus ont été effectués avec l'aide du mélange PACE® (3crbio) selon le protocole du fabricant et réalisé sur le Plateau ANAN (Analyses des Acides Nucléiques) à la Maison de la Recherche du Campus du Végétal de Beaucozé.

Suite aux tests des amorces, seulement sept marqueurs ont été retenus pour le génotypage (Figure 12, marqueurs verts). Le génotypage des individus a été réalisé avec la même technologie qu'exposée précédemment (KASP) grâce à deux machines qPCR Bio-Rad disponibles sur le plateau.

Le traitement des données a consisté au nettoyage global des résultats notamment grâce au logiciel Bio-Rad CFX Maestro™ qui permet la visualisation et l'analyse des données issues de la qPCR. Des données manquantes ont été imputées manuellement, quand cela était possible.

Au final, nous disposions d'une matrice composée de 1970 individus et 44 marqueurs. Les cartes génétiques ont ensuite été construites pour chaque groupe de liaison avec JoinMap 4.1. Les analyses finales ont été effectuées sur ce jeu de données et sont présentées dans la suite de ce rapport.

4. Détection des QTLs

Afin de détecter les QTLs responsables de la résistance à la tavelure dans la descendance de la famille F, une cartographie fine a été effectuée avec le package R/qtl sur R (Broman et al. 2003). Des probabilités génotypiques à intervalles réguliers de 1 cM ont été calculées avec la fonction « sim.geno » (création de marqueurs 'fantômes'). Les cartographies d'intervalle simple et d'intervalle composite ont été estimées à l'aide d'une méthode d'imputation multiple. Les cofacteurs pour la cartographie des intervalles composites ont été déterminés à partir du meilleur modèle de prédiction simulé avec la fonction « stepwise ». Le seuil LODscore a été déterminé à l'aide de 1 000 permutations pour identifier les QTLs statistiquement significatifs ($\alpha = 0,05$ pour l'ensemble du génome). Les seuils de LOD étaient d'environ 1,80.

Tableau 6. Définition des jeux de données étudiés pour la détection de QTLs (A) et des relations épistatiques de qF17 (B) et de qF11 (C)

A

Nom du jeu de données	Vi-B04	Vi-B04qT1-	Vi-Z14_1	Vi-Z14_2	Vi-Z14_moyadj
Nombre d'individus analysés	1970	866	1970	1101	1101
Critères	Individus inoculés avec la souche Vi-B04 lors de la première inoculation	Sélection des individus qT1- parmi le jeu de Vi-B04	Individus inoculés avec la souche Vi-Z14 lors de la deuxième inoculation	Individus inoculés avec la souche Vi-Z14 lors de la troisième inoculation	Moyenne ajustée pour chaque individu inoculé lors de la deuxième et troisième inoculation avec souche Vi-Z14
QTL mis en évidence	qT1	Autres QTLs	Autres QTLs	Autres QTLs	Autres QTLs

B

Nom du jeu de données	qF11+_Vi-B04	qF11+_Vi-B04qT1-	qF11+_Vi-Z14_1	qF11+_Vi-Z14_2	qF11+_Vi-Z14_moyadj
Nombre d'individus analysés	630	225	630	300	300
Critères	Sélection des génotypes qF11+ parmi Vi-B04	Sélection des génotypes qF11+ parmi Vi-B04qT1-	Sélection des génotypes qF11+ parmi Vi-Z14_1	Sélection des génotypes qF11+ parmi Vi-Z14_1	Sélection des génotypes qF11+ parmi Vi-Z14_moyadj
QTL mis en évidence	qF17	qF17	qF17	qF17	qF17

C

Nom du jeu de données	qF17+_Vi-B04	qF17+_Vi-B04qT1-	qF17+_Vi-Z14_1	qF17+_Vi-Z14_2	qF17+_Vi-Z14_moyadj
Nombre d'individus analysés	1100	410	1100	590	590
Critères	Sélection des génotypes qF17+ parmi Vi-B04	Sélection des génotypes qF17+ parmi Vi-B04qT1-	Sélection des génotypes qF17+ parmi Vi-Z14_1	Sélection des génotypes qF17+ parmi Vi-Z14_1	Sélection des génotypes qF17+ parmi Vi-Z14_moyadj
QTL mis en évidence	qF11	qF11	qF11	qF11	qF11

Les bornes des intervalles de confiance (IC) ont été calculées en utilisant le premier marqueur dont le LOD score équivaut au LOD score du pic-2. Les R^2 individuels (contribution de chaque QTL à la variation phénotypique) et globaux (contribution du modèle complet à la variation phénotypique) ainsi que les effets individuels de chaque QTL sur la variable phénotypique ont été calculés avec la fonction « fitqtl ».

La détection des QTLs a été effectuée sur plusieurs des variables dont nous disposions (AUDPC, sporulation, chlorose et crispation à différentes dates) et sur cinq jeux de données différents nommés : Vi-B04, Vi-B04qT1-, Vi-Z14_1, Vi-Z14_2, Vi-Z14_moyadj (Tableau 6-A). Ces jeux de données ont également été repris avec une sélection sur les individus porteurs de l'allèle de résistance soit du QTL qF11, soit du qF17, afin d'explorer leur interaction épistatique (qF11+ en Tab.6-B et qF17+ en Tab.6-C). Effectivement, l'étude de l'interaction épistatique entre qF11 et qF17 a été approfondie en effectuant des détections supplémentaires de QTLs. Dans cette étude, les individus porteurs de l'allèle de résistance du QTL qF11 ont été sélectionnés, et une détection de QTLs a été effectuée spécifiquement pour le QTL qF17. De même, des individus porteurs du QTL qF17 ont été sélectionnés, et une détection de QTLs a été réalisée pour le QTL qF11. Ces analyses complémentaires visent à mieux détecter et préciser les bornes de ces deux rQTLs dans l'hypothèse où le contraste allélique à un QTL n'est visible qu'en présence de l'allèle favorable à l'autre QTL.

En plus de R/qtl, ces résultats ont été illustrés grâce au logiciel MapChart 2.32.

5. Dénombrements de gènes et annotations fonctionnelles

Les bornes physiques des intervalles de confiance ont été identifiées par blast sur le génome du pommier (Jbrowse interne GDDH13v1.1). Les intervalles de confiance retenus pour chaque QTL correspondaient aux intervalles les plus étroits, tout en maximisant le LOD et R^2 , obtenus sur l'ensemble des détections de QTLs réalisées. Lorsque des marqueurs fantômes ont été détectés comme bornes, le marqueur réel le plus proche en dehors de l'intervalle a été utilisé comme borne. La liste des gènes et de leurs annotations fonctionnelles compris sous l'intervalle de confiance des QTLs a été extraite à partir des données d'annotation du génome GDDH13 (disponible à : <https://iris.angers.inra.fr/gddh13/the-apple-genome-downloads.html>).

Enfin, des données transcriptomiques (type RNA-Seq) issues d'une étude antérieure (Bénéjam, 2021) ont été intégrées à ce travail. Cette étude avait pour objectif d'explorer les défenses constitutives et les défenses induites par l'infection de *V. inaequalis*. Les résultats ont montré que les défenses constitutives ne semblaient pas être significativement impliquées dans la résistance à l'inverse des défenses induites. C'est pourquoi nous explorerons ici les données liées aux défenses induites. Pour cela, nous viendrons comparer les niveaux d'expression génique avant et après l'inoculation de *V. inaequalis* entre quatre classes de QTLs : sansQTL, qF11qF17, qT1 et qT1qF11qF17. La sur ou sous-expression d'un gène a été considéré comme significative lorsque la p-value (ajustée par la méthode Benjamini-Hochberg) été inférieure à 0,01 avec un foldchange (FD) supérieur à 1,5 ou inférieur à -1,5.

L'intégration de ces données permet l'identification de gènes différentiellement exprimés en réponse à l'infection sous les intervalles de confiance des QTLs, offrant ainsi la possibilité d'affiner la liste des gènes candidats potentiels sous-jacents.

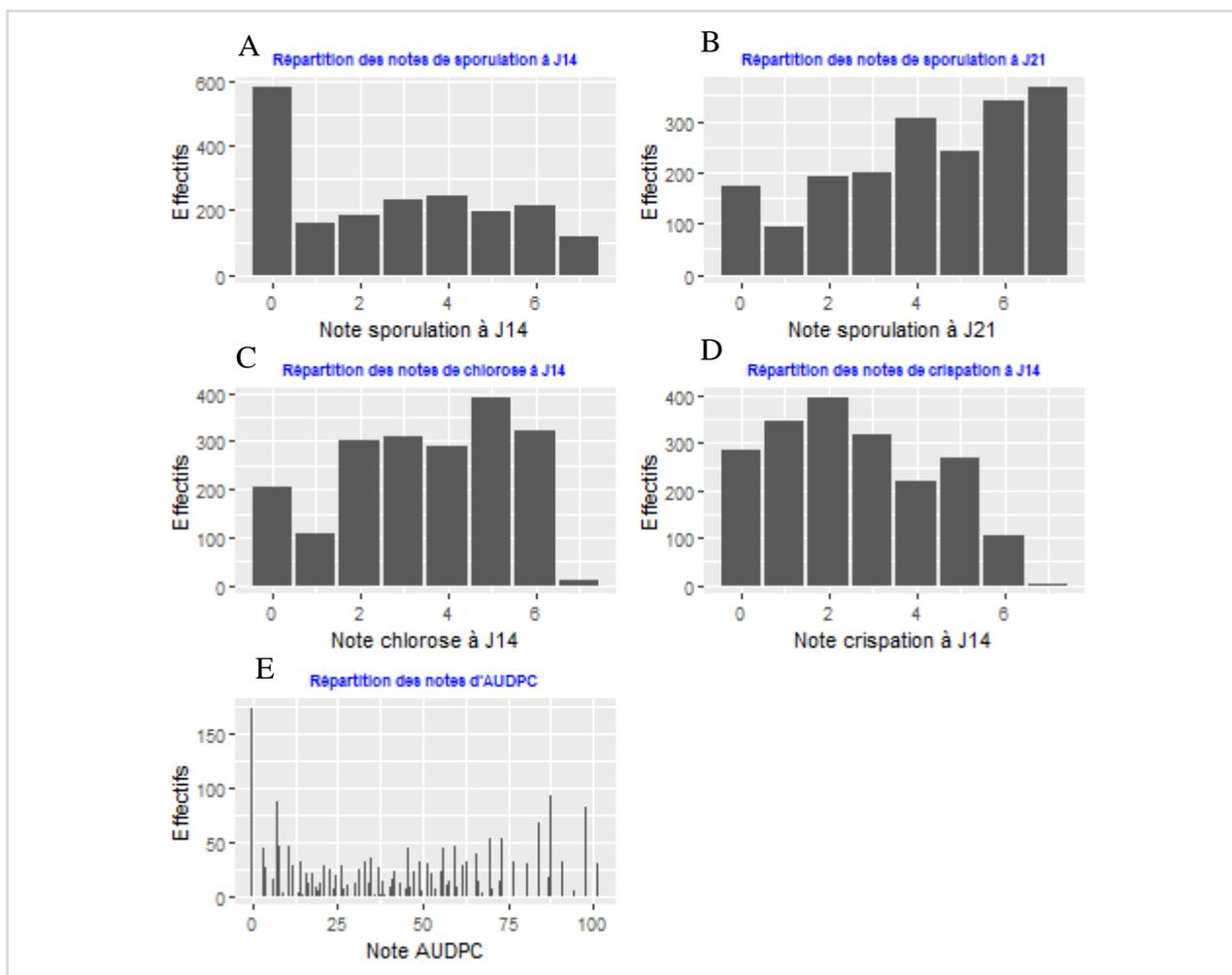


Figure 13. Distribution des différentes variables de sensibilité et de résistance à la tavelure obtenus lors de l'inoculation avec la souche Vi-B04

Tableau 7. Coefficients de corrélation de Pearson entre variables de sensibilité et de résistance à la tavelure obtenus lors de l'inoculation avec la souche Vi-B04

	Sporulation J14	Sporulation J21	AUDPC	Chlorose J14	Crispation J14
Sporulation J14		0.828***	0.987***	-0.359***	-0.289***
Sporulation J21			0.902***	-0.317***	-0.238***
AUDPC				-0.374***	-0.298***
Chlorose J14					0.626***
Crispation J14					

Significativité du test : "****" si la valeur p est < 0,001 ; "****" si la valeur p est < 0,01 ; "*" si la valeur p est < 0,05 ; "." si la valeur p est < 0,10 ; "" sinon

III- Résultats

1- Étude exploratoire des variables de sensibilité et de résistance

a. Souche Vi-B04

La première inoculation a été effectuée avec la souche Vi-B04, souche qui révèle fortement le QTL à effet majeur (qT1).

A J14 après inoculation, les notes de sporulation (symptôme de sensibilité à la tavelure) suivaient une distribution asymétrique positive (Figure 13-A) avec une majorité d'individus possédant une note de zéro, correspondant à des génotypes ne portant aucune sporulation de *V. inaequalis* à J14 après inoculation.

A J21, une fois l'agent pathogène bien installé, la distribution s'est renversée avec un grand nombre d'individus présentant des notes de six à sept, comportant donc des feuilles avec de larges zones concernées par la sporulation (Fig. 13-B).

L'AUDPC, qui résume l'information comprise dans les notes de sporulation aux deux dates différentes (J14 et J21), présentait une distribution presque bimodale (Fig. 13-E) avec des individus très résistants (avec une note de zéro d'AUDPC) et d'autres très sensibles (avec une note autour de cent d'AUDPC).

Les notes de chlorose, quant-à-elles, étaient dispersées suivant une variabilité de réponse parmi les individus de la descendance avec des notes allant de zéro à six (Fig. 13-C). Une majorité d'individus présentait ce type de symptômes de résistance avec plus de 80% des génotypes qui ont obtenus une note de chlorose supérieure à un. Pour la variable crispation, deuxième symptôme de résistance noté, les notes suivaient presque une loi normale centrée autour de la note de deux (Fig. 13-D). Ici aussi plus de 80% des génotypes étaient porteurs de ce symptôme de résistance avec au moins une note égale à un.

Les variables de sensibilité étaient fortement liées positivement entre elles, avec des coefficients de corrélation de Pearson supérieur à 0,80 entre la sporulation à J14, à J21 et l'AUDPC (Tableau 7). Ces variables de sensibilité étaient logiquement associées négativement aux variables de résistance avec des coefficients autour de -0,30. Les variables de résistance étaient d'ailleurs, elles-aussi, corrélées positivement entre elles (0,60 entre crispation et chlorose).

b. Souche Vi-Z14

Les deux autres inoculations effectuées sur les individus de la famille F ont été réalisées avec la souche Vi-Z14 qui contourne qT1, QTL à fort effet.

Une différence de distribution des variables de sensibilité entre les deux inoculations a été observée. Pour Vi-Z14_1, première inoculation avec la souche sur l'ensemble de la descendance, qT1 semblait être bien contourné avec peu d'individus ayant zéro symptôme de sensibilité. La majorité des individus ayant déjà des notes de sporulation allant de quatre à six à J14, avec des portions de feuilles largement concernées par la sporulation de la tavelure (Figure 14-A). A l'inverse, pour Vi-Z14_2 (deuxième inoculation avec cette souche sur les recombinants de la famille), la majorité des individus ont été noté sans symptôme à J14 (Fig. 14-

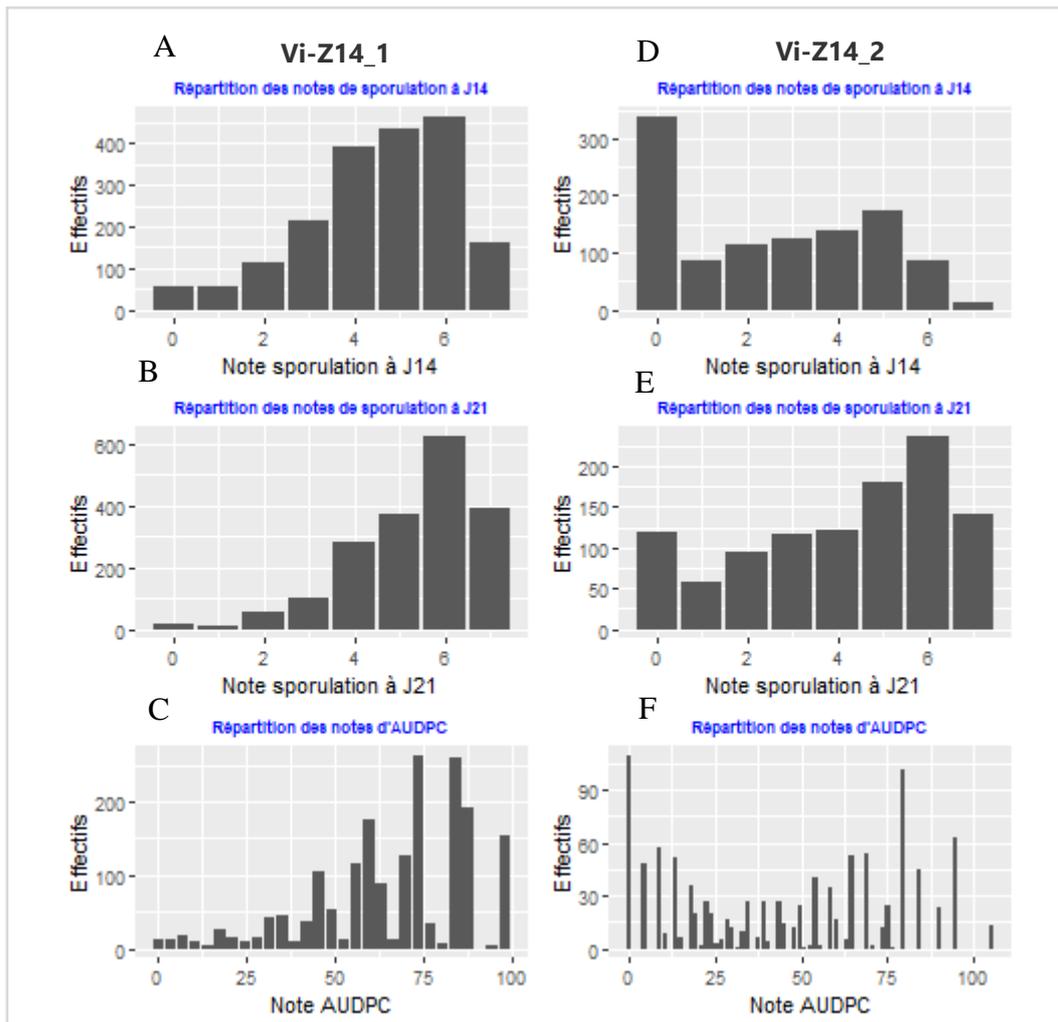


Figure 14. Distribution des différentes variables de sensibilité et de résistance à la tavelure obtenus lors des deux inoculations avec la souche Vi-Z14

Tableau 8. Coefficient de corrélation de Pearson entre variables de sensibilité et de résistance à la tavelure obtenus lors des deux inoculations avec la souche Vi-Z14

	1_ Sporulation J14	1_ Sporulation J21	1_ AUDPC	2_ Sporulation J14	2_ Sporulation J21	2_ AUDPC
1_ Sporulation J14		0.868***	0.994***	0.313***	0.286***	0.321***
1_ Sporulation J21			0.919***	0.312***	0.316***	0.330***
1_ AUDPC				0.320***	0.301***	0.331***
2_ Sporulation J14					0.800***	0.982***
2_ Sporulation J21						0.900***
2-AUDPC						

Significativité du test : "****" si la valeur p est < 0,001 ; "***" si la valeur p est < 0,01 ; "**" si la valeur p est < 0,05 ; "." si la valeur p est < 0,10 ; "" sinon

1_ en référence à la première inoculation avec la souche Vi-Z14 (Vi-Z14_1)

2_ en référence à la deuxième inoculation avec la souche Vi-Z14 (Vi-Z14_2)

D).

A J21 (Fig.14-B et E), les distributions se ressemblaient davantage, avec tout de même plus d'individus sans sporulation visible lors de la deuxième inoculation. Effectivement, seulement 1% des génotypes était totalement résistants à J21 avec Vi-Z14_1 contre 10% avec Vi-Z14_2. En outre, dans les deux cas, une majorité des individus a été notée entre cinq et sept (70% lors de la première expérimentation et plus de 50% lors de la deuxième).

Ces divergences de distributions se sont naturellement retrouvées dans la variable AUDPC (Fig.14-C et F), avec une distribution asymétrique négative pour Vi-Z14_1 (une majorité d'individus très sensibles) et plutôt bimodale pour Vi-Z14_2 (avec des individus peu et d'autres très sensibles).

Pour chaque inoculation, les variables de sensibilité étaient fortement liées positivement entre elles, avec des coefficients de corrélation de Pearson supérieur à 0,80 entre la sporulation à J14, à J21 et l'AUDPC (Tableau 8). Cependant, entre inoculation, les coefficients de corrélation pour une variable donnée n'étaient que de ~0,30.

2- Étude de l'interaction épistatique qF11*qF17

L'étude de l'interaction épistatique entre qF11 et qF17 a été entreprise afin de confirmer leur synergie et de mieux comprendre les mécanismes moléculaires en interaction entre ces deux loci permettant d'augmenter la résistance à la tavelure. Les résultats des analyses de variance (ANOVA) sur les variables d'AUDPC ont révélé des différences significatives (Annexe 2). Pour chacune des trois inoculations (Vi-B04, Vi-Z14_1 et Vi-Z14_2), les individus appartenant à la classe génotypique qF11+qF17+ (individus possédant les allèles favorables des QTLs qF11 et qF17) ont manifesté une sensibilité nettement réduite par rapport aux autres classes génotypiques (qF11-qF17-, qF11+qF17- et qF11-qF17+). Cela signifie que les individus porteurs du couple qF11+qF17+ étaient significativement plus résistants ou moins sensibles que les génotypes porteurs d'un des deux QTLs seul et des individus n'en portant aucun.

En outre, l'interaction de ces deux QTLs a été mise en évidence lors de l'ensemble des détections de QTLs avec les variables de sensibilité que sont AUDPC, sporulation J14 et J21, et pour l'ensemble des jeux de données étudiés (Vi-B04, Vi-B04qT1-, Vi-Z14_1, Vi-Z14_2, Vi-Z14_moyadj). Présentée comme significativement impliquée dans la résistance à la tavelure, l'interaction qF11*qF17 a expliqué en moyenne 24% de la variation de la variable phénotypique étudiée (Annexe 3). Pour le jeu de donnée Vi-B04qT1-, celle-ci s'est même élevée à 34% en moyenne sur les différentes variables grâce à la suppression de l'effet de qT1, alors qu'elle n'était que de 25% pour le jeu Vi-B04. Pour les analyses avec Vi-Z14 (expérimentation 1, 2 et moyenne ajustée), les R² étaient moins élevés et ont oscillé entre 13 et 28.

Ces observations confirment l'interaction épistatique favorable entre les gènes qF11 et qF17. En d'autres termes, la présence simultanée des allèles favorables de ces deux gènes semble avoir un effet synergique qui renforce la résistance du pommier à l'infection par *Venturia inaequalis*.

Tableau 9. Paramètres associés au locus de caractères quantitatifs *qT1* identifiés pour la résistance à la tavelure dans la famille F avec les différents jeux de données et variables utilisées

Jeu de données	Variable	Chr	Position	LOD	R ²	Cmin	Cmax	MarqueurPosition
Vi-B04	AUDPC	1	5.39	92	16.89	4	6.79	AX-115385376
	Sporulation J14	1	5.39	78	15.44	4	6.79	AX-115385376
	Sporulation J21	1	6	100	18.45	4	6.79	AX-115662155
	Chlorose J14	1	5.39	199	38.51	5	6.09	AX-115385376
	Crispation J14	1	5.39	98	20.16	4	6.79	AX-115385376
Vi-Z14_1	AUDPC	1	6.79	3	2.16	1	12	AX-115183713
	Sporulation J14	1	6.79	3	1.99	0	11	AX-115183713
Vi-Z14_2	AUDPC	1	2	3	1.66	0	9	AX-115182062
	Sporulation J21	1	6.2	8	4.28	0	9	AX-115655192
Vi-Z14_moyadj	Sporulation J21	1	6.2	4	4.38	1	12	AX-115655192

Chr : chromosome sur lequel la détection est effectuée ; Position : position du QTL en cM ; LOD : LODscore ; R² : pourcentage d'explication de la variance phénotypique expliquée par le QTL ; Cmin et max : borne de l'intervalle de confiance inférieure et supérieure ; En italique : le pic de LOD du QTL correspond à un marqueur fantôme, en MarqueurPosition il est donc indiqué le marqueur réel le plus proche du marqueur fantôme détecté

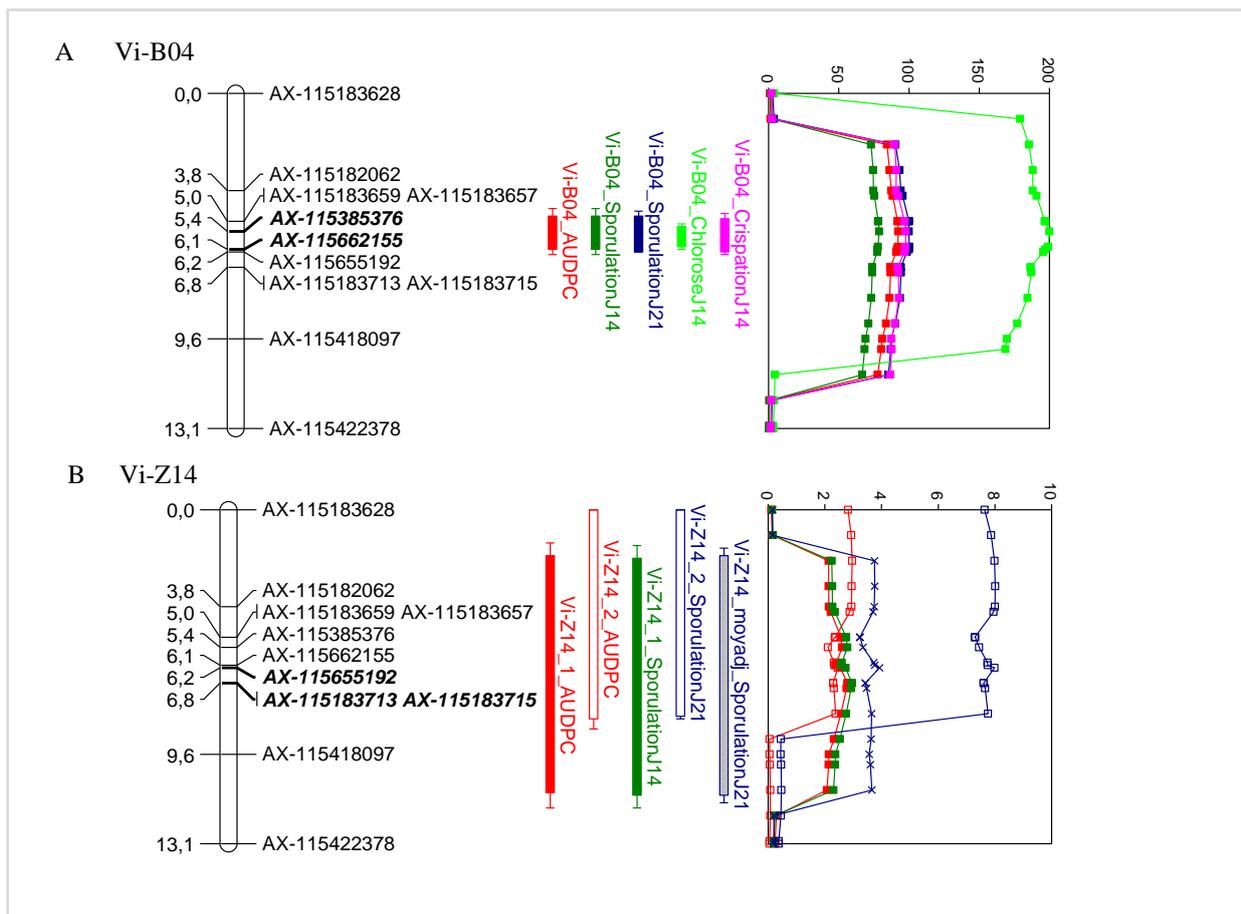


Figure 15. Carte génétique, intervalles de confiance et courbes de LOD associés au locus de caractères quantitatifs *qT1* lors des différentes détections avec la première souche de *Venturia* Vi-B04 (A) et la deuxième Vi-Z14 (B)

Marqueur en gras et italique : marqueurs le plus souvent au pic de LOD ; intervalle de confiance LOD-1 et LOD-2

3- Cartographie fine des QTLs de résistance

a. *qT1*

Le QTL à fort effet, *qT1*, a été détecté à dix reprises pour chaque variable issue de l'inoculation de la souche Vi-B04 et une partie de celles avec Vi-Z14 (Tableau 9 et Figure 15). Ceci correspond à cinq détections avec la souche Vi-B04 (pour les variables AUDPC, sporulation J14, sporulation J21, chlorose J14 et crispation J14) et cinq avec Vi-Z14 (expérimentation 1 et 2 AUDPC, expérimentation 1 sporulation J14, expérimentation 2 sporulation J21, et moyenne ajustée sporulation J21).

Le QTL a été mieux détecté avec la souche Vi-B04, de par des LOD-score bien supérieurs à ceux observés pour la souche Vi-Z14 (en moyenne 3 pour Vi-Z14 expérimentation 1 contre 110 pour Vi-B04 avec le même nombre d'individus en analyse). De plus, les différentes variables de Vi-B04 ont présenté le même profil de courbes de LOD, ce qui est moins le cas pour Vi-Z14.

Ces constatations ont amené à des intervalles de confiance beaucoup plus courts pour *qT1* avec la souche Vi-B04, de l'ordre de 2,79cM contre 10cM pour la souche Vi-Z14. La variable la plus précise était vraisemblablement Vi-B04 chlorose J14, qui a permis d'obtenir un intervalle de 1.09cM.

La position du QTL a convergé entre 5 et 7cM avec quatre détections qui indiquaient une position à 5,39cM et cinq autres détections à 6, 6,2 et 6,49cM. Une seule détection, Vi-Z14_2 AUDPC, indiquait une position bien inférieure à 2cM (marqueur fantôme) et non concordante avec le reste.

Au final, la souche Vi-Z14 qui contourne *qT1* n'explique qu'environ 2 à 4% de la variation du phénotype. Cette souche a donné des positions moins précises, avec des LOD faibles. Au contraire, *qT1* expliquait entre 16 et 38% de la variation du phénotype avec la souche Vi-B04, souche qui permet une meilleure précision des bornes du QTL.

b. *qF3*

Le QTL *qF3* n'a été détecté dans aucune analyse. Aucun pic de QTL n'a été mis en évidence, que ce soit en faisant varier la souche (Vi-B04 et Vi-Z14), la variable symptôme (AUDPC, sporulation, chlorose et crispation) ou le jeu de données (avec ou sans *qT1*+ pour Vi-B04 et entre les répétitions de Vi-Z14).

Tableau 10. Paramètres associés au locus de caractères quantitatifs qT13 identifiés pour la résistance à la tavelure dans la famille F avec les différents jeux de données et variables utilisées

Jeu de données	Variable	Chr	Position	LOD	R ²	Clmin	Clmax	MarqueurPosition
Vi-B04qT1-	AUDPC	13	5.89	3	1.63	0.11	11.89	AX-115187347
	Sporulation J14	13	5.89	3	2.02	0.11	11	AX-115187347
	Sporulation J21	13	5.89	2	0.87	0	11.93	AX-115187347
	Crispation J14	13	11.93	3	3.61	6	11.93	AX-115187365
Vi-Z14_1	AUDPC	13	5	11	3.25	0.11	8.94	AX-115187347
	Sporulation J14	13	4	10	3.03	0	8.94	AX-115187322
	Sporulation J21	13	5	12	2.82	1	11	AX-115187347
Vi-Z14_2	AUDPC	13	7	25	9.24	3.82	11	AX-115187347
	Sporulation J14	13	7	27	10.15	1	10	AX-115187347
	Sporulation J21	13	7	15	5.52	4	11.93	AX-115187347
Vi-Z14_moyadj	AUDPC	13	5	25	8.23	1	8.94	AX-115187347
	Sporulation J14	13	5	26	8.68	1	8.27	AX-115187347
	Sporulation J21	13	7	19	5.64	3	11.93	AX-115187347

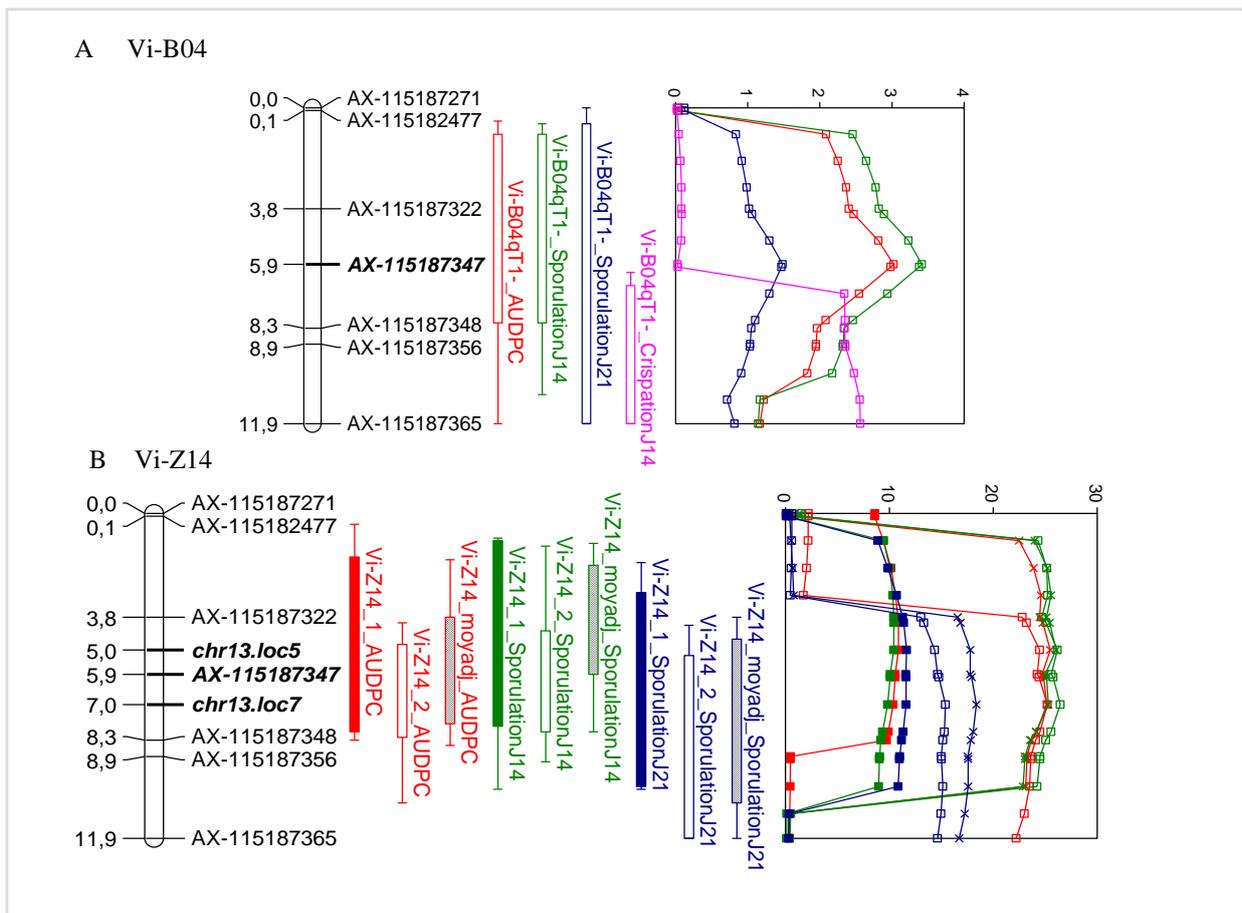


Figure 16. Carte génétique, intervalles de confiance et courbes de LOD associés au locus de caractères quantitatifs qT13 lors des différentes détections avec la première souche de *Venturia* Vi-B04 (A) et la deuxième Vi-Z14 (B)

c. qT13

Le QTL sur le groupe de liaison 13 provenant du parent 'TN10-8' a été détecté à 13 reprises par l'ensemble des variables issues de l'inoculation de la souche Vi-Z14 et sur la sélection des individus qT1- avec la souche Vi-B04 (Tableau 10 et Figure 16). Ainsi, il n'a pas été détecté avec le jeu de donnée Vi-B04 sans sélection sur qT1, QTL à effet majeur qui a pu cacher l'effet de qT13, ce qui nous rappelle l'intérêt des détections sur le jeu Vi-B04qT1-.

Ce QTL a été d'autant mieux détecté avec la souche Vi-Z14 qui permettait des LOD presque dix fois plus élevés que Vi-B04 (avec environ le même nombre d'individus en analyse en comparant le jeu Vi-B04qT1- et Vi-Z14 expérimentation 1 ou moyenne ajustée).

Les bornes inférieures du QTL variaient entre 0 et 3,82cM et les bornes supérieures entre 8,27 et 11,93cM. Les intervalles de confiance étaient aussi plus précis avec les détections de Vi-Z14 avec des étendues de 8cM en moyenne contre 10cM pour la souche Vi-B04. Crispation à J14 de Vi-B04qT1- a donné l'intervalle de confiance le plus petit (5,93cM), cependant, n'étant pas en accord avec les autres courbes de LOD, la variable la plus précise retenue a été AUDPC Vi-Z14_2, avec un intervalle de 7,18cM.

La position du QTL variait entre 4cM et 11,93cM avec 12 détections qui indiquaient une position plutôt entre 4 et 7 cM. Une seule détection (Vi-B04qT1- crispation J14) annonçait une position plus éloignée à 11,93cM. A noter que pour la souche Vi-Z14, des marqueurs essentiellement fantômes se trouvaient au pic du QTL (entre 5 et 7cM), entourant le marqueur détecté avec la souche Vi-B04 à 5.9cM.

Au final, la souche Vi-Z14 explique environ 6,3% de la variation du phénotype. Cette souche a donné des positions plus précises, avec des LOD plus élevés. Au contraire, qT13 expliquait seulement environ 2% de la variation du phénotype avec la souche Vi-B04 sélectionnée sur qT1-.

Tableau 11. Paramètres associés au locus de caractères quantitatifs qF11 identifiés pour la résistance à la tavelure dans la famille F avec les différents jeux de données et variables utilisées

Jeu de données	Variable	Chr	Position	LOD	R ²	Clmin	Clmax	MarqueurPosition
Vi-B04	AUDPC	11	10	44	11.66	4	12	AX-115365739
	Sporulation J14	11	10	38	10.96	4	12	AX-115365739
	Sporulation J21	11	8	47	10.99	4	11	AX-115365739
	Crispation J14	11	8	10	2.51	1	12	AX-115365739
Vi-B04qT1-	AUDPC	11	10	21	16.89	4	11	AX-115365739
	Sporulation J14	11	11	20	16.13	5.17	12	AX-115365739
	Sporulation J21	11	9	20	15.42	4	11	AX-115365739
	Crispation J14	11	2	5	4.69	1	12	AX-115186005
Vi-Z14_1	AUDPC	11	5.16	13	5.89	1	12	AX-115185087
	Sporulation J14	11	5.16	13	5.77	1	12	AX-115185087
	Sporulation J21	11	5.16	11	4.04	0.16	11	AX-115185087
Vi-Z14_2	AUDPC	11	5.16	11	6.02	3.37	11	AX-115185087
	Sporulation J14	11	5.16	10	5.65	3.37	11	AX-115185087
	Sporulation J21	11	6	10	5.74	3.37	11	AX-115365739
Vi-Z14_moyadj	AUDPC	11	5.16	17	8.43	4	11	AX-115185087
	Sporulation J14	11	5.16	16	8.53	4	11	AX-115185087
	Sporulation J21	11	5.16	15	5.58	4	11	AX-115185087

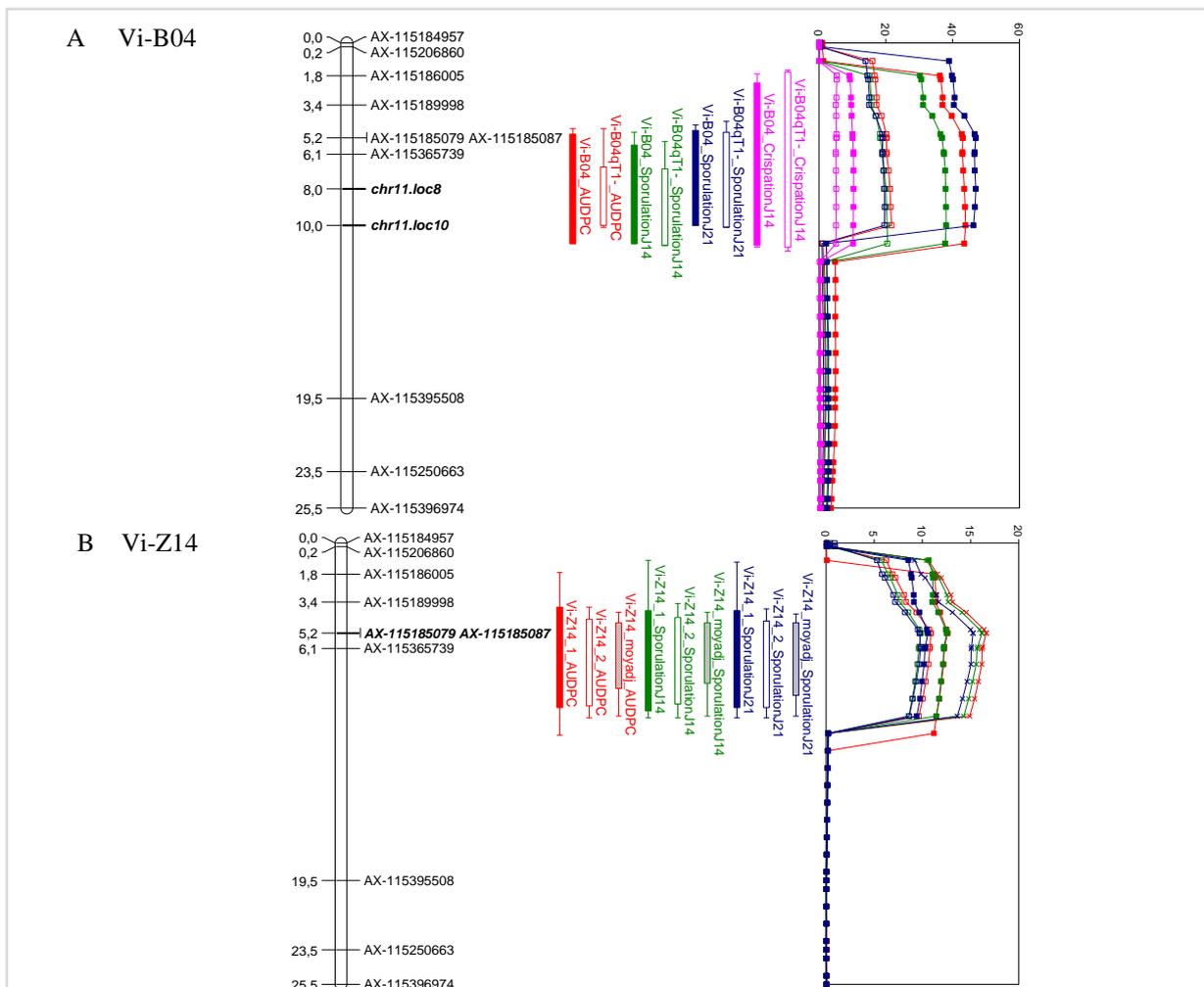


Figure 17. Carte génétique, intervalles de confiance et courbes de LOD associés au locus de caractères quantitatifs qF11 lors des différentes détections avec la première souche de Venturia Vi-B04 (A) et la deuxième Vi-Z14 (B)

d. qF11

Le QTL qF11 a été détecté à 17 reprises et pour tous les jeux de données avec les variables AUDPC, sporulation J14 et sporulation J21 (Tableau 11 et Figure 17). En plus de ces variables de sensibilité, qF11 a également été détecté avec la variable crispation J14 avec Vi-B04 (sur les deux jeux de données Vi-B04 et Vi-B04qT1-).

Les bornes inférieures du QTL variaient entre 1 et 5.17 cM et les bornes supérieures entre 11 et 12 cM. L'ensemble des bornes supérieures étaient des marqueurs fantômes à 11 et 12 cM, dans une zone sans réels marqueurs.

Les intervalles de confiance, avec l'une ou l'autre souche, étaient d'environ 8,40 cM. La variable et la souche qui ont donné le plus petit intervalle de confiance de 6.83 cM était sporulation J14 avec le jeu Vi-B04qT1-.

En ce qui concerne la position du marqueur au pic de LOD, la souche Vi-Z14 l'a placé aux alentours de 5.2 cM avec au total huit détections et différentes variables qui appuient ces résultats. Seule la souche Vi-B04 a présenté des pics de LOD décalés entre 8 et 11 cM.

Au final, la souche Vi-B04 explique en moyenne 11% de la variation du phénotype concernés mais a désigné des marqueurs fantômes au pic de LOD. Au contraire, qF11 expliquait seulement environ 6% de la variation du phénotype avec la souche Vi-Z14 mais avec une position du QTL plus en amont.

Les détections de QTLs sur qF11 ont été ré-exécutées avec une sélection sur les individus porteurs de qF17+, ceci dans le but de préciser davantage les résultats pour ce QTL en utilisant la connaissance de l'interaction épistatique entre ces deux QTLs (Annexe 4 et 5).

Avec cette sélection, le QTL qF11 a été détecté à 15 reprises pour tous les jeux de données avec les variables AUDPC, sporulation J14 et sporulation J21. Ces résultats sont semblables à ceux sans sélection, sauf pour la variable crispation qui n'a pas donné lieu, ici, à une détection du QTL.

Les bornes inférieures du QTL variaient entre 1 et 5.17cM et les bornes supérieures entre 11 et 12cM, comme c'était déjà le cas avec les précédents résultats. L'ensemble des bornes supérieures étaient également des marqueurs fantômes. Avec ces bornages, qF11 se trouvait en moyenne dans un intervalle de confiance de 8.2cM contre 8.4cM pour les premières analyses. Cependant le plus petit intervalle de confiance reste inchangé de 6.83cM, détecté avec la variable sporulation J14 de Vi-B04.

La position du pic de QTL corrobore également la première détection puisque la souche Vi-Z14 le place en amont de la souche Vi-B04. Cependant l'écart de la position du pic de LOD entre les différentes détections est réduit entre 5.16 à 9cM ici contre 5.16 à 11cM précédemment. La majorité des analyses supportent l'hypothèse que le QTL serait à 7 ou 8cM avec, respectivement, quatre et cinq détections.

Au final, en utilisant la connaissance de l'interaction épistatique qF11*qF17, une précision globale de l'intervalle de confiance de qF11 a été possible bien que la présence de marqueurs fantômes en tant que pic de LOD et bornes supérieures doit être discutée. L'explication de la variation du phénotype a également été accrue passant en moyenne de 11% à 20% pour la souche Vi-B04 et de 6% à 11% pour la Vi-Z14.

e. qF17

Le QTL qF17, quant-à-lui, a été détecté à 18 reprises et pour tous les jeux de données avec les variables AUDPC, sporulation J14 et sporulation J21 (Tableau 12 et Figure 18). En plus de

Tableau 12. Paramètres associés au locus de caractères quantitatifs qF17 identifiés pour la résistance à la tavelure dans la famille F avec les différents jeux de données et variables utilisées

Jeu de données	Variable	Chr	Position	LOD	R ²	Clmin	Clmax	MarqueurPosition
Vi-B04	AUDPC	17	12	65	15.39	10.89	13.65	AX-115182714
	Sporulation J14	17	12	59	14.6	11	13.65	AX-115182714
	Sporulation J21	17	12	55	12.65	10.19	13.65	AX-115182714
	Crispation J14	17	9.43	15	3.51	7	14	AX-115208280
Vi-B04qT1-	AUDPC	17	12.77	26	19.44	8.41	15	AX-115182714
	Sporulation J14	17	12.77	25	18.71	11	15	AX-115182714
	Sporulation J21	17	12.77	17	13.8	8.41	18	AX-115182714
	Chlorose J14	17	8.41	5	2.97	3	13.65	AX-115191510
	Crispation J14	17	9.43	10	7.55	6.11	13.65	AX-115208280
Vi-Z14_1	AUDPC	17	12	32	10.29	5	15.33	AX-115182714
	Sporulation J14	17	12	30	9.82	5	15.33	AX-115182714
	Sporulation J21	17	10	27	7.83	3	12	AX-115486553
Vi-Z14_2	AUDPC	17	12	28	11.36	10.19	13.65	AX-115182714
	Sporulation J14	17	12	23	10.15	10.19	14.03	AX-115182714
	Sporulation J21	17	12	27	10.75	10.19	13.65	AX-115182714
Vi-Z14_moyadj	AUDPC	17	12	37	15.09	10.19	13.65	AX-115182714
	Sporulation J14	17	12	34	14.24	10.19	13.65	AX-115182714
	Sporulation J21	17	12	35	10.53	10.19	13.65	AX-115182714

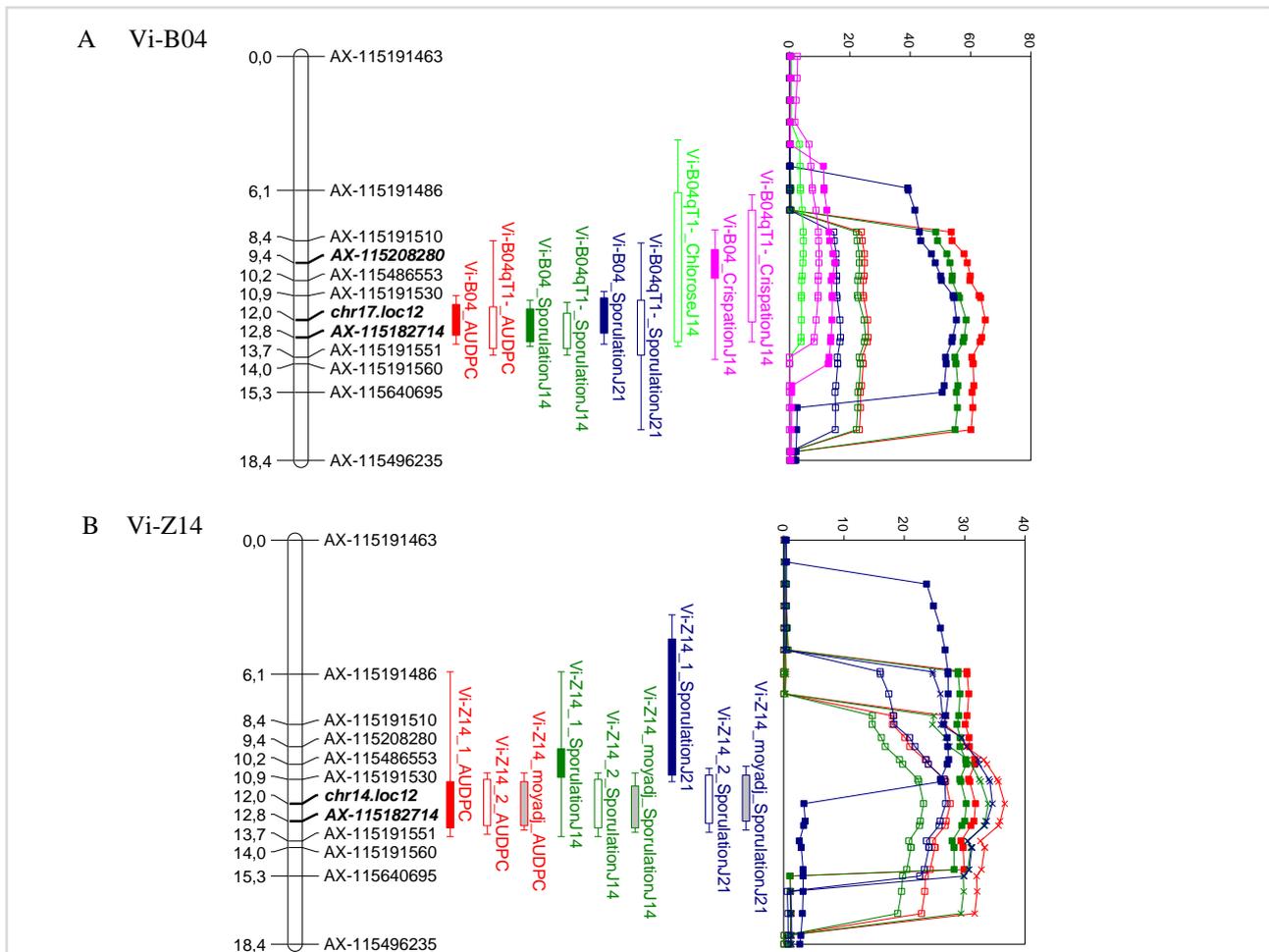


Figure 18. Carte génétique, intervalles de confiance et courbes de LOD associés au locus de caractères quantitatifs qF17 lors des différentes détections avec la première souche de *Venturia* Vi-B04 (A) et la deuxième Vi-Z14 (B)

ces variables de sensibilité, qF17 a également été détecté avec la variable crispation J14 avec Vi-B04 et Vi-B04qT1- ainsi que chlorose avec Vi-B04qT1-, tous deux symptômes de résistance.

Les bornes inférieures du QTL variaient majoritairement entre 7 et 11cM avec des bornes qui peuvent descendre jusqu'à 3 et 5cM sur certaines variables (chlorose et crispation) ou jeux de données (Vi-Z14_1). Les bornes supérieures étaient davantage regroupées entre 13 et 15cM. Les deux souches ont identifié la zone du QTL compris en moyenne dans 6cM. Néanmoins, la variable sporulation J14 de Vi-B04 a permis de réduire cet intervalle de confiance à 2.65cM. Les deux souches ont également convergé pour positionner le marqueur au pic de LOD aux alentours de 12cM. Le marqueur fantôme à 12cM a été détecté au pic à 11 reprises. Et le marqueur réel à 12.8cM l'a été trois fois. Seul les détections avec les symptômes de résistance (chlorose et crispation) ont proposé une position plus en amont, à 8.41 et 9.43cM, avec des R² biens inférieurs au reste des variables.

Au final, les souches expliquaient toutes les deux environ 12% de la variation du phénotype concerné.

Les détections de QTLs sur qF17 ont été ré-exécutées avec une sélection sur les individus porteur de qF11+, ceci dans le but de préciser davantage les résultats pour ce QTL en utilisant la connaissance de l'interaction épistatique entre ces deux QTLs (Annexe 6 et 7).

Avec cette sélection, le QTL qF17 a été détecté à 15 reprises pour tous les jeux de données avec les variables AUDPC, sporulation J14 et sporulation J21. Ces résultats sont semblables à ceux sans sélection, sauf pour les variables symptômes de résistance (chlorose et crispation) qui n'ont pas donné lieu, ici, à une détection du QTL concerné.

Les bornes inférieures du QTL variaient entre 7 et 11cM et les bornes entre 13 et 15cM comme pour les précédentes détections, permettant un intervalle de confiance en moyenne de 4.5cM (inférieur à 6cM des premières analyses). Deux détections ont permis de confirmer le plus petit intervalle de 2.65cM (sporulation J14 Vi-B04 et Vi-Z14_moyadj).

11 détections ont indiqué le pic de LOD à 12cM (marqueur fantôme) et les quatre autres à 12.77cM. Ces résultats sont ainsi moins variables que les précédentes analyses entre 8.41 et 12.77cM.

Au final, en utilisant la connaissance de l'interaction épistatique qF11*qF17, l'intervalle de confiance de qF17 a été confirmé et globalement précisé. L'explication de la variation du phénotype a également été accrue passant en moyenne de 12% à 29% pour la souche Vi-B04 et de 11% à 24% pour la Vi-Z14.

4- Étude des gènes et fonctions sous-jacents

Pour l'étude des gènes sous-jacents, l'intervalle de confiance le plus réduit a été utilisé quel que soit la variable ou le jeu de donnée testé en utilisant seulement les marqueurs réels en borne.

Pour qT1, la détection sur chlorose J14 avec la souche Vi-B04 a montré l'IC le plus réduit (1.09M) avec un LODscore et un R² plus élevés que les autres détections. Le QTL a été situé à 5.39cM (marqueur AX-115385376) entre 5 (AX-115183657) et 6.09cM (AX-115662155). Replacé sur la carte physique, l'intervalle de confiance de qT1 est de 610 984pb comportant 93 gènes dont 8 gènes n'ont pas d'annotation.

Tableau 13. Annotations des gènes différentiellement exprimés entre avant et après inoculation à *Venturia inaequalis* sous les intervalles de confiance de qT1, qF11 et qF17 chez des individus appartenant à différentes classe génotypique (T1, F11F17 et T1F11F17)

Intervalle de confiance	Classe génotypique	seq_id	Swissprot_annot	TAIR_name	LogFC
Intervalle de qT1	T1	MD01G1178700	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase FLS2	AT2G34930.1	2.68
		MD01G1179300	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase GSO2	AT2G34930.1	1.52
		MD01G1179800	Receptor-like protein 12	AT2G34930.1	2.27
		MD01G1180500	Receptor-like protein 12	AT2G34930.1	2.32
Intervalle de qF11	T1F11F17	MD01G1178700	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase FLS2	AT2G34930.1	2.63
		MD01G1179800	Receptor-like protein 12	AT2G34930.1	1.75
		MD01G1180500	Receptor-like protein 12	AT2G34930.1	2.43
Intervalle de qF17	T1F11F17	MD11G1063100	Protein CHLOROPLAST IMPORT APPARATUS 2	AT1G07050.1	2
		MD11G1049600	Cytochrome P450 714C2	AT5G24910.1	2.81
		MD11G1054100	Non-specific lipid-transfer protein	AT2G38540.1	3.71
Intervalle de qF17	T1F11F17	MD11G1059400	WRKY transcription factor WRKY24	AT2G38470.1	3.17
		MD17G1099000	WRKY transcription factor 42	AT4G04450.1	1.73
		MD17G1105800	Palmitoyl- monogalactosyldiacylglycerol delta-7 desaturase, chloroplastic	AT3G15850.1	1.58
Intervalle de qF17	T1F11F17	MD17G1106300	1-aminocyclopropane-1- carboxylate oxidase	AT1G05010.1	2.07

Seq_id : identifiant du gène dans le génome de référence du pommier *GDDH13* ; *Swissprot_annot* : Annotation fonctionnelle suivant la base de données *Swissprot* ; *TAIR_name* : identifiant du gène orthologue chez *A. thaliana* ; *LogFC* : Fold change décrivant dans quelle mesure l'expression génique change entre une mesure originale (avant inoculation) et une mesure ultérieure (à J5 après inoculation).

Parmi ces 93 gènes, quatre (MD01G1178700, MD01G1179300, MD01G1179800, MD01G1180500) sont plus exprimés de manière significative ($p_{\text{val}} < 0.01$ et $FC > 1.5$) après inoculation chez les individus appartenant à la classe génotypique T1 (individus ne possédant que le QTL qT1 ; Tableau 13). Trois de ces quatre gènes (MD01G1178700, MD01G1179800, MD01G1180500) le sont également chez les individus de la classe T1F11F17 (individus porteurs des QTL qT1, qF11 et qF17). Les quatre gènes différenciellement exprimés codent pour des récepteurs (RLP pour receptor-like protein). Plus précisément, MD01G1178700 et MD01G1179300 codent tous deux pour des protéines de type récepteur riche en répétition de leucine (LRR-RLP pour leucine-rich repeat receptor-like protein) impliqué dans la reconnaissance des agents pathogènes.

Pour qT13, la détection sur AUDPC avec la souche Vi-Z14_2 a permis l'obtention d'un intervalle de confiance de 7.18cM (avec un LODscore et R^2 parmi les plus élevés des détections de qT13). Le QTL serait vraisemblablement situé vers 7cM (marqueur le plus proche étant AX-115187347), entre 3.82 (AX-115187322) et 11cM (AX-115187365). Sur la carte physique, l'intervalle de confiance de qT13 est de 1 929 046pb avec 283 gènes dont 18 non annotés. Aucune donnée sur le transcriptome n'est disponible pour ce QTL car qT13 ne faisait pas partie de l'étude et les individus portant ce QTL ne sont pas identifiés dans les classes génotypiques.

Pour qF11, sans sélection sur qF17, avec un LOD et R^2 importants, la variable sporulation J14 de Vi-B04qT1- a permis d'identifier le plus petit intervalle de confiance (6.83cM). Avec sélection sur qF17+, la détection sporulation J14 de Vi-B04 a rejoint ce constat. Le QTL a été situé, respectivement, à 11 et 8cM (marqueurs fantômes) entre 5,17 (AX-115185079) et 12cM (marqueur fantôme). Concernant ce dernier marqueur fantôme, une approche de comparaison sur la carte physique a permis de détecter sa position approximative ; choix effectué car aucun marqueur réel n'était à proximité. Ainsi, l'IC de qF11 est de 2 651 426pb comportant 308 gènes dont 34 non annotés.

Parmi ces 308 gènes, un seul gène (MD11G1063100) est significativement plus exprimé après inoculation chez les individus de la classe génotypique F11F17. Ce gène est impliqué dans la régulation générale de la voie d'importation des protéines du chloroplaste. Chez les individus T1F11F17, ce gène disparaît de l'analyse, et trois autres sont détectés (MD11G1049600, MD11G1054100 et MD11G1059400). MD11G1049600 code pour un cytochrome, MD11G1054100 pour une protéine de transfert des lipides non spécifiques et MD11G1059400 pour un facteur de transcription.

Pour qF17, sans sélection sur qF11, avec les LOD les plus élevés et des R^2 importants, ce sont les détections sur les variables AUDPC et sporulation J14 de Vi-B04 qui ont permis de préciser un intervalle de 2.76cM. Avec sélection sur qF11+, les détections AUDPC et sporulation J14 de Vi-Z14_moyadj rejoignent ce constat. Le QTL a été situé à 12cM (marqueur le plus proche AX-115182714) entre 10.89 (AX-115191530) et 13.65cM (AX-115191551). Replacé sur la carte physique, l'intervalle de confiance de qF17 est de 1 063 447 pb comportant 111 gènes (dont 9 non annotés).

Aucun gène n'a été différenciellement exprimé dans l'intervalle de confiance de qF17 chez les individus qF11F17. Néanmoins, sur les individus T1F11F17, trois gènes le sont : MD17G1099000 (code pour un facteur de transcription), MD17G1105800 (code pour une acide gras désaturase), MD17G1106300 (code pour une oxydoréductase).

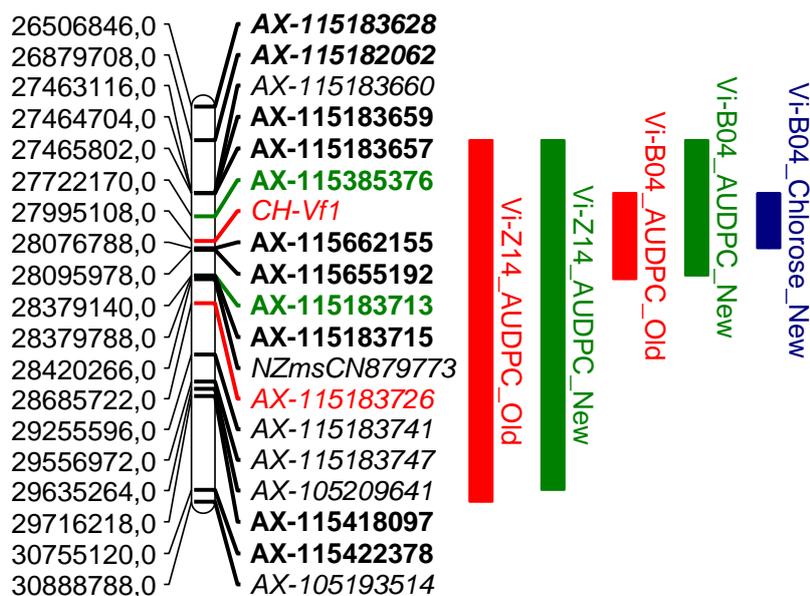


Figure 19. Comparaison des intervalles de confiance de qTL issus de la précédente étude et de la présente sur la carte physique du pommier

Les IC en rouge sont les anciennes détections réalisées avec la variable AUDPC dans Bénéjam et al. (2021) avec les marqueurs en rouge correspondant au pic de détection du QTL. En vert, il s'agit des nouvelles détections AUDPC de cette étude, avec les marqueurs verts associés au pic de QTL. La détection la plus précise, détectée lors de cette étude, est disponible en bleue. Les marqueurs en italique sont issus de Bénéjam et al. (2021), alors que les marqueurs en gras ont été utilisés dans cette étude. Enfin les marqueurs en italique et en gras sont communs aux deux études.

Tableau 14. Marqueurs et positions associés aux intervalles de confiance et pic de QTL pour qTL

Jeu de données	Variable	Type	Chr	MarqueurPosition	Position	Clmin	Clmax	IC	NBGenes
Vi-Z14	AUDPC	Old	1	AX-115183726	28685721	26879708	30888786	4 Mb	514
	AUDPC(1)	New	1	AX-115183713	28379141	26879708	30755119	3,8 Mb	497
Vi-B04	AUDPC	Old	1	CH-Vf1	27995106	27463116	28420266	957 Kb	123
	AUDPC	New	1	AX-115385376	27722168	26879708	28379141	1,5 Mb	202
	Chlorose J14	New+petit	1	AX-115385376	27722168	27465802	28076786	610 Kb	93

Tableau à retrouver dans son intégralité en Annexe 9

Chr : chromosome sur lequel la détection est effectuée ; MarqueurPosition : marqueur au pic ; Position : position du QTL en pb ; Clmin et max : borne de l'intervalle de confiance inférieure et supérieure en pb ; IC : intervalle de confiance LOD-2 en pb ; NBGenes : nombre de gènes sous l'intervalle

IV- Discussion

Le principal but de ce stage était de réduire les intervalles de confiance de QTLs de résistance à la tavelure (soit qT1, qF3, qF11, qT13 et qF17) précédemment identifiés par l'équipe et notamment dans les travaux de thèse de Juliette Bénéjam (Bénéjam, 2021). Il s'agissait également de préciser les gènes sous-jacents et mécanismes moléculaires impliqués dans la résistance du pommier à la tavelure.

Pour qT1, QTL à effet majeur provenant du parent TN10-8, l'intervalle de confiance a effectivement été réduit de 346 Kb passant de 957 Kb à 611 Kb (Figure 19 et Tableau 14) grâce à une variable extrêmement précise (chlorose J14) avec la souche Vi-B04 (souche la plus pertinente pour ce QTL). Cet intervalle de confiance est centré sur le marqueur utilisé en SAM pour suivre le gène majeur Rvi6, qui correspondait également au pic de détection du QTL de la précédente étude avec la souche Vi-B04 (Bénéjam et al., 2021). Rvi6, gène majeur de résistance à la tavelure largement utilisé dans les programmes de sélection de pommiers, code pour une protéine de type récepteur contenant une répétition extracellulaire riche en leucine (LRR-RLP) et joue un rôle dans la reconnaissance de *Venturia inaequalis* (Vinatzer et al., 2001).

Différentes observations nous rapprochent physiquement de ce gène majeur :

- (i) qT1 a été co-localisé à plusieurs reprises avec le gène majeur Rvi6 dans cette étude et d'autres (Calenge et al., 2004 ; Lê Van et al. 2012 ; Bénéjam et al., 2021).
- (ii) Dans son intervalle de confiance le plus court, seul des gènes codant pour des LRR-RLP sont davantage exprimés après inoculation de l'agent pathogène par rapport à une situation sans inoculum (dans cette étude). Or Rvi6 est également un gène codant pour un LRR-RLP (Vinatzer et al., 2001)
- (iii) qT1 induit une résistance quantitative élevée en stoppant le pathogène juste après sa pénétration sous la cuticule donnant lieu à des symptômes typiques de chlorose et nécrose (Laloi et al., 2017). Or, de tels résultats sont généralement observés dans les réactions de résistance déterminées par les gènes R de résistance à la tavelure (Bus et al., 2011)

Ces observations soutiennent l'hypothèse que qT1 pourrait être une forme faible du gène R, potentiellement un homologue ou un allèle de ce gène et également impliqué dans la reconnaissance de l'agent pathogène.

Cette reconnaissance de *V. inaequalis* impliquerait l'activation d'une cascade de signaux qui déclencherait les voies de signalisation de l'acide salicylique et réprimerait celles de l'acide jasmonique, éléments impliqués dans les défenses des plantes (Bénéjam et al., 2021).

La différence de niveau de protection entre le gène majeur Rvi6 et le QTL qT1 peut être due :

- (i) A la reconnaissance imparfaite de l'agent pathogène : L'hypothèse suggère que la reconnaissance de *Venturia inaequalis* n'est pas parfaite, ce qui entraîne un effet partiel de qT1 sur la réduction de la maladie. Contrairement à une reconnaissance complète par un gène majeur qui conduirait à une immunité totale, avec le modèle 'gène-pour-gène'. On se rapprocherait ici d'une interaction 'gène-mineur pour gène-mineur' proposée par Parlevliet et Zadoks (1977) pour la résistance quantitative, bien que les auteurs considéraient que celle-ci ne pouvaient pas être basée sur de l'hypersensibilité (ce qui s'oppose à certaines observations de fortes réactions très locale de qT1 faites par Laloi et al. (2017)).

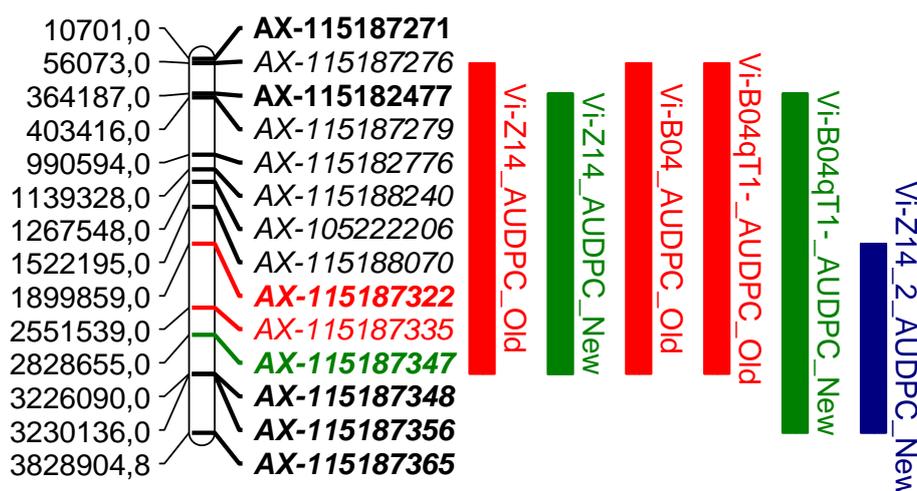


Figure 20. Comparaison des intervalles de confiance de qT13 issus de la précédente étude et de la présente sur la carte physique du pommier

Tableau 15. Marqueurs et positions associés aux intervalles de confiance et pic de QTL pour qT13

Jeu de données	Variable	Type	Chr	MarqueurPosition	Position	Cmin	Cmax	IC	NBGenes
Vi-Z14	AUDPC	Old	13	AX-115187322	1899859	56073	3226090	3,2 Mb	462
	AUDPC(moyadj)	New	13	AX-115187347	2828655	364187	3230136	2,9 Mb	411
	AUDPC(2)	New+petit	13	AX-115187347	2828655	1899859	3828905	1,9 Mb	283
Vi-B04	AUDPC	Old	13	AX-115187335	2551539	56073	3226090	3,1 Mb	462
	AUDPC	New	13	-	-	-	-	-	-
Vi-B04qT1-	AUDPC	Old	13	AX-115187335	2551539	56073	3226090	3,1 Mb	462
	AUDPC	New	13	AX-115187347	2828655	364187	3828905	3,5 Mb	491

Tableau à retrouver dans son intégralité en Annexe 10

Chr : chromosome sur lequel la détection est effectuée ; MarqueurPosition : marqueur au pic ; Position : position du QTL en pb ; Cmin et max : borne de l'intervalle de confiance inférieure et supérieure en pb ; IC : intervalle de confiance LOD-2 en pb ; NBGenes : nombre de gènes sous l'intervalle

- (ii) A la signalisation imparfaite en aval : Selon cette hypothèse, qT1 pourrait déclencher une signalisation imparfaite, c'est-à-dire plus lente, en aval de la reconnaissance de l'agent pathogène, par rapport à une situation gène-pour-gène avec un gène majeur. Cela signifie que la réponse de signalisation déclenchée par qT1 après la reconnaissance n'est pas aussi rapide ou efficace que celle déclenchée par Rvi6.

Pour approfondir la compréhension de la différence entre qT1 et Rvi6, une approche intéressante serait de comparer les séquences génomiques des individus porteurs de Rvi6 avec ceux portant qT1 par un séquençage du génome. Cette comparaison permettrait de mettre en évidence les variations génétiques potentiellement responsables des différences d'efficacité de résistance entre qT1 et Rvi6. Par ailleurs, une autre approche serait d'analyser les métabolismes spécifiques induits différemment chez les individus portant qT1 et Rvi6. On pourrait alors identifier des métabolites clés produits en réponse à la reconnaissance du champignon et qui pourraient expliquer la différenciation de la résistance entre qT1 et Rvi6.

Pour qF3, identifié pour la première et seule fois dans l'étude de Bénéjam et al. (2021), les analyses n'ont pas permis de le mettre en évidence dans ce travail. Le QTL avait été détecté avec un LODscore de 5 expliquant 5% de la variation des notes d'AUDPC avec les jeux de données Vi-Z14 et Vi-B04qT1- dans le précédent travail (Annexe 8). Pourtant, les analyses ont été réalisées sur des individus issus du même croisement (TN10-8 x Fiesta) et inoculés avec les deux mêmes souches de *Venturia inaequalis* (Vi-Z14 et Vi-B04), suggérant une cohérence entre les deux études. Néanmoins, des différences existent entre les deux études :

- (i) Dans l'étude précédente, une approche portant sur 267 génotypes a été employée avec 10 répliques pour chaque génotype, tandis que ce travail s'est penché sur l'étude de 1970 individus sans répétition.
- (ii) Logiquement, la précédente étude a impliqué du matériel greffé pour obtenir les répétitions des individus. Or, dans la présente étude, le matériel végétal a été obtenu par semis de graines.

Ces distinctions dans la conception de l'étude et d'autres effets environnementaux ont pu influencer les résultats obtenus et expliqueraient la non-détection de qF3.

Pour qT13, QTL également découvert dans Bénéjam et al. (2021), l'intervalle de confiance a pu être réduit de plus de 1 Mb passant de 3.2 Mb à 1.9 Mb grâce à une des détections d'AUDPC avec la souche Vi-Z14 (expérimentation 2 ; Figure 20 et Tableau 15). La présente étude a donc réussi à mieux détecter qT13 avec des LOD scores plus élevés que chez Bénéjam et al. (25 contre 10), et des R² équivalents (autour de 8-10 ; Annexe 8). Pour la souche Vi-B04, au contraire, qT13 n'a pas pu être détecté avec autant de précision puisque (i) aucun QTL n'a été cartographié avec le jeu de données Vi-B04, et (ii) un QTL avec un plus grand intervalle de confiance avec le jeu Vi-B04qT1- (avec des LOD score et R² moins intéressants que dans Bénéjam et al. (2021)) a été cartographié.

Dans tous les cas, le pic de qT13 a été placé plus en aval de 280Kb dans cette étude pour Vi-B04qT1- et de 1Mb pour Vi-Z14.

Malgré la réduction de l'intervalle de confiance, 283 gènes se situent encore sous les bornes de qT13. Avec seulement sept marqueurs sur ce QTL dans cette étude, il serait pertinent de davantage densifier la zone, notamment autour du marqueur AX-115187347 (5.89cM) puisque la majorité des pics de LOD score se situait au-dessus ou à proximité. De plus, aucune donnée transcriptomique n'est disponible pour ce QTL mineur, ne permettant pas de commencer le travail de réduction du nombre de gènes et d'inspection de possibles fonctions.

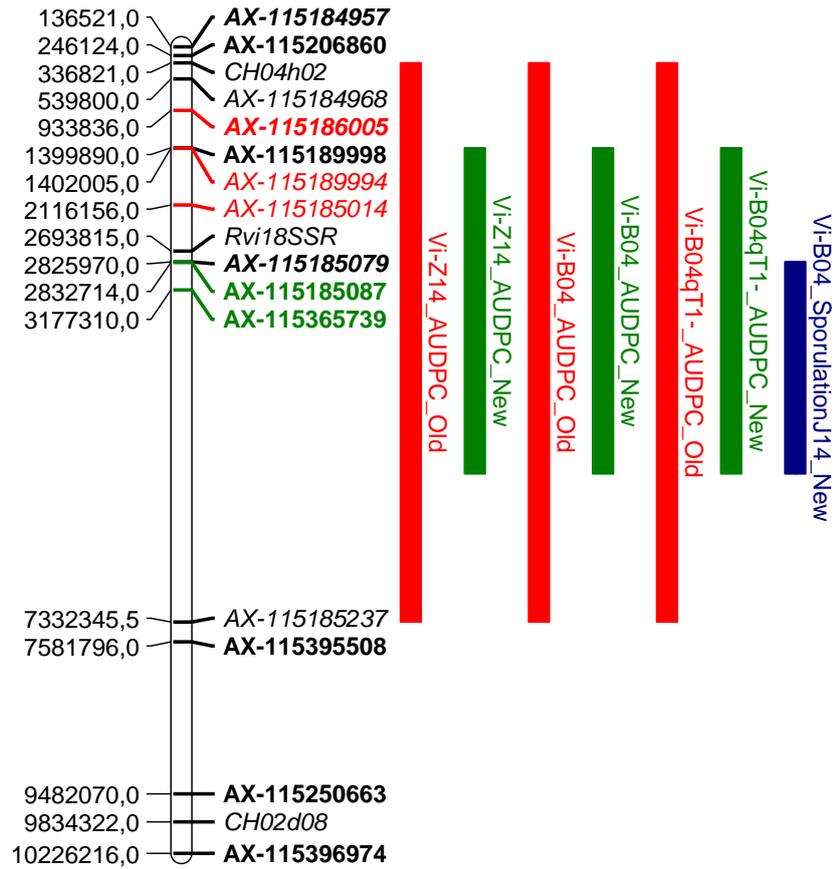


Figure 21. Comparaison des intervalles de confiance de qF11 issus de la précédente étude et de la présente sur la carte physique du pommier

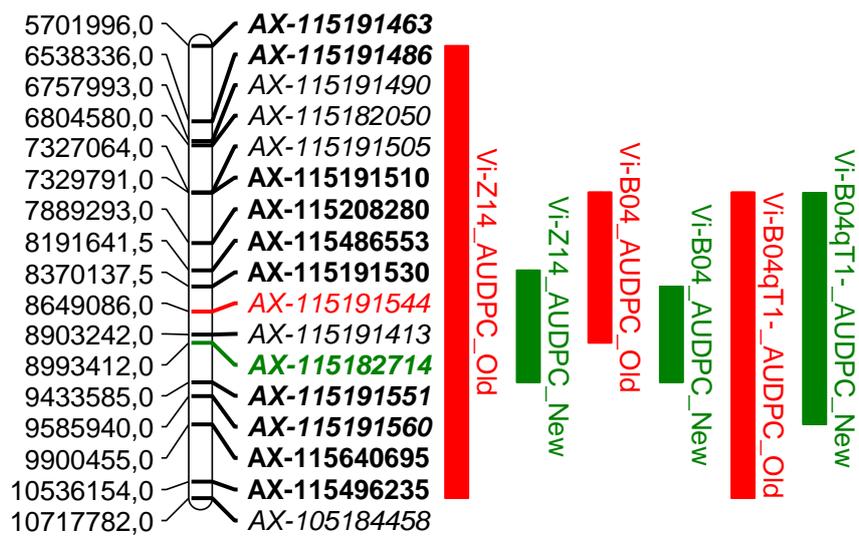


Figure 22. Comparaison des intervalles de confiance de qF17 issus de la précédente étude et de la présente sur la carte physique du pommier

Pour qF11, QTL provenant du parent Fiesta, l'intervalle de confiance a été réduit de 4.3Mb passant de près de 7Mb à 2.7Mb grâce à la variable sporulation J14 avec le jeu de données Vi-B04qT1- (Figure 21 et Annexe 11). Avec les conditions de cette expérimentation, des LOD scores plus élevés que ceux dans Bénéjam et al. (2021) ont permis cette précision (18 contre 9 en moyenne). Ce travail a ainsi établi la position de qF11 en amont d'une zone sans marqueur avec des pics de LOD pour les marqueurs AX-115185087 et AX-115365739 ainsi que d'autres marqueurs fantômes en aval. Ces pics ont d'ailleurs été situés en aval de ceux détectés par l'étude de Bénéjam. Cette zone sans marqueur englobe une partie fortement homozygote du chromosome 11 du pommier, nommée ROH (Run Of Homozygosity ; source IRHS équipe Respom, données non publiées), qui exclut logiquement la présence d'un QTL. Cependant, les limites exactes de cette région d'homozygotie ne sont pas connues. L'identification de ces limites pourrait être cruciale afin de définir précisément l'emplacement du QTL qF11. Pour éclairer cette question, il serait nécessaire de mener une analyse détaillée de la séquence génomique du chromosome 11 chez les deux parents de la famille F. Cette étude pourrait non seulement délimiter les bornes de la ROH, mais aussi mettre en évidence de nouveaux SNP hétérozygotes en amont de cette région, contribuant ainsi à une meilleure détection et un meilleur bornage de qF11.

Pour qF17, QTL provenant du parent Fiesta et en interaction positive avec qF11, l'intervalle de confiance est passé de 1.7Mb à 1Mb (suite à l'inoculation avec Vi-B04 ; Figure 22 et Annexe 12). Le QTL qF17 a globalement été mieux détecté dans nos conditions avec des LOD score et R² plus élevés que dans l'étude de Bénéjam. Le pic a été placé en aval de 344kb par rapport à cette précédente étude.

L'interaction épistatique positive entre ces deux gènes, que sont qF11 et qF17, a pu être à nouveau mise en évidence, en accord avec d'autres études (Caffier et al., 2014 ; Bénéjam et al., 2021). La prise en compte de cette interaction n'a pas permis de réduire les intervalles de confiance déjà obtenus avec une détection classique, mais les a tout de même confirmés. Cette interaction épistatique prouve encore une fois que qF11 et qF17 agissent conjointement dans la résistance à la tavelure chez le pommier. Laloï et al. (2017) ont montré que la combinaison des QTLs qF11 et qF17 entrave le développement fongique à différents stades, soutenant l'hypothèse qu'ils pourraient intervenir dans des voies de défense en initiant des mécanismes moléculaires appartenant à la résistance basale (Calenge et al., 2004; Caffier et al., 2014; Laloï et al., 2017).

Grâce aux données transcriptomiques, des hypothèses quant aux voies moléculaires impliquées dans la résistance à la tavelure de ces deux QTLs peuvent être émises.

(i) La voie des acides gras insaturés :

Sous l'intervalle de qF11, le gène orthologue AT2G38540 chez *Arabidopsis thaliana* code pour une protéine de transfert lipidique non spécifique. Ces protéines végétales de transfert de lipides (ou LTP) seraient impliquées dans certains mécanismes de défense contre les agents pathogènes. Ces LTP agiraient à la fois par des mécanismes directs de toxicité envers les pathogènes et par des mécanismes de signalisation qui modulent les réponses de défense des plantes (Yeats et Rose, 2008)

Sous l'intervalle de qF17, c'est le gène AT3G15850 qui code pour une enzyme chloroplastique responsable de la synthèse des acides gras insaturés C16:1 chez *Arabidopsis thaliana*. Chez la vigne (*Vitis vinifera*), le gène orthologue conduit à la production d'acides gras insaturés (comme C18:1) dans les chloroplastes. Laureano

et al. (2021) ont observé une surexpression de ce gène ainsi qu'une accumulation des acides gras insaturés dans les chloroplastes chez *Vitis vinifera* en réponse à l'infection par *Plasmopara viticola*. Cette accumulation permettrait aux membranes chloroplastiques de devenir plus fluides et perméables en empêchant la rupture de la membrane et préservant l'appareil photosynthétique (Laureano et al., 2018). En outre, ces acides gras insaturés peuvent également servir de substrats pour la biosynthèse de molécules de signalisation telles que les hormones de défense comme l'acide jasmonique (Walley et al., 2013). En résumé, les acides gras insaturés pourraient jouer un rôle crucial dans la défense contre des agents pathogènes comme la tavelure chez le pommier, à l'instar de la vigne et du mildiou, en influençant la composition lipidique des membranes chloroplastiques et en participant à la signalisation dans la défense.

- (ii) La voie des phytohormones impliquées dans la signalisation des défenses (acide jasmonique, salicylique et éthylène) :

Sous l'intervalle de qF11, AT2G38470 code pour un gène membre de la famille des facteurs de transcription végétaux WRKY (WRKY33). Liu et al., (2021) ont montré que WRKY33 était un acteur essentiel dans la réponse immunitaire du pommier sauvage *Malus sieversii* à l'infection par *Valsa mali*. Il serait impliqué à la fois dans les stades de réponses précoces et tardives, régulant potentiellement les voies de signalisation hormonale de défense (acide jasmonique et salicylique).

Sous l'intervalle de qF17, AT1G05010 code pour une ACC oxydase (1-amino cyclopropane-1-carboxylic). Son rôle principal est de catalyser la conversion de l'ACC (1-amino cyclopropane-1-carboxylic acid) en éthylène.

Ces trois hormones (acide salicylique, jasmonique et éthylène) sont les principaux acteurs de la régulation des réponses de défense des plantes. Ces trois voies ne fonctionnent pas de manière indépendante, mais interagissent et se croisent pour former un réseau complexe de régulation de la défense (Thomma et al., 2001).

Les gènes et fonctions identifiés sous les intervalles qF11 et qF17 montrent des similitudes fonctionnelles et font appel à des éléments clés de la réponse immunitaire, suggérant leur implication dans la signalisation et la régulation des mécanismes de défense contre *Venturia inaequalis*.

V- Conclusion et perspectives

La pomme, fruit préféré des Français, doit entamer le virage, comme de nombreuses autres cultures, de la réduction de l'utilisation des produits phytosanitaires. L'une des préoccupations majeures des arboriculteurs en termes de maladie est la tavelure, causée par le champignon *Venturia inaequalis*. Le déploiement des résistances génétiques a permis d'apporter une première solution, mais en raison de l'érosion des gènes de résistance, le développement de variétés contenant des résistances plus durables apparaît comme nécessaire. Le pyramidage de mécanismes moléculaires variés permettrait de répondre à ce challenge, mais nécessite de développer nos connaissances sur le fonctionnement des résistances, notamment sous-jacents aux QTLs, encore trop méconnus. Les QTLs de résistance à la tavelure qT1, qF3, qF11, qT13 et qF17 qui ségrégent au sein de la famille F (TN10-8 x Fiesta) font l'objet de différentes études au sein de l'IRHS d'Angers. Dans la continuité des travaux précédents, cette présente étude a apporté des éclaircissements significatifs concernant ces QTLs. Ceci par (i) la validation de quatre QTLs (qT1, qF11, qT13 et qF17), ainsi que l'infirmité du QTL qF3 ; (ii) la réduction de la taille des intervalles de confiance, ouvrant la voie à une localisation plus précise des gènes candidats et (iii) la proposition d'hypothèses concernant les mécanismes moléculaires mis en jeu.

Toujours en quête d'amélioration et de précision, diverses pistes méthodologiques ont été identifiées pour la suite. Dans un premier temps, la densification de marqueurs sur des zones spécifiques pourrait permettre de repreciser la position de certains QTLs (qF11 et qT13). En parallèle, des limites en matière de ressources génomiques des progéniteurs ont été identifiées, notamment pour permettre d'éclaircir les gènes et régions causaux sur qT1 et qF11. Ainsi, un projet futur de séquençage complet des génomes des parents de la famille F, Fiesta et TN10-8, constituera une étape cruciale pour une compréhension plus approfondie des mécanismes sous-jacents à la résistance.

Ensuite, et à plus long terme, de nouvelles expérimentations seront au calendrier comprenant les individus recombinants de la famille F. Ces individus, plantés en pépinière, produiront du matériel de greffage d'ici deux à trois années. En utilisant des réplicas sur un nombre d'individus recombinants conséquent, l'équipe espère créer un contexte expérimental plus robuste et propice à une détection améliorée des QTLs, notamment ceux à faible effet (qF3 et qT13).

Parallèlement à ces pistes, une approche visant la co-localisation entre des rQTLs (QTLs de résistance) et mQTL (QTL de métabolite) est employée pour élucider, d'une autre manière, les mécanismes sous-jacents des QTLs de résistance présents chez la famille F (thèse de Romane Lapous). Cette démarche permettra d'identifier des métabolites candidats impliqués dans la résistance et dont le gène causal serait dans l'intervalle de confiance des QTLs, impliquant dans son sillage le développement des connaissances des mécanismes moléculaires sous-jacents des QTLs.

Enfin, et pour conclure cette étude qui a été conduite en collaboration avec le groupement de sélectionneurs Novadi et financée par le GIS Fruits, des implications pratiques de ces recherches peuvent être envisagées. Dans le cadre de la création variétale de pommiers, l'utilisation de la sélection assistée par marqueurs pour suivre les QTLs semble être une perspective future attrayante. Des marqueurs pour suivre les allèles favorables de qT1, qF11 et qF17 existent déjà à l'heure actuelle. Ces perspectives ouvrent la voie à la création de nouvelles variétés de pommiers comportant un pyramidage de ces QTLs et de gènes majeurs avec différents mécanismes moléculaires menant à des résistances plus durables.

Bibliographie

- Agreste. 2018. « Enquête pratiques phytosanitaires en arboriculture en 2018 IFT et nombre de traitements ». [en ligne] Publié le 28/05/2021. Accès le 06/03/2023. <https://agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/disaron/Chd2108/detail/>
- Belfanti E., Silfverberg-Dilworth E., Tartarini S., Patocchi A., Barbieri M., Zhu J., Vinatzer B.A., Gianfranceschi L., Gessler C., Sansavini S. (2004) « The HcrVf2 gene from a wild apple confers scab resistance to a transgenic cultivated variety ». *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol 101, n°3, pp 886-890. <https://doi.org/10.1073/pnas.0304808101>.
- Bénaouf G., Parisi L. (2000) « Genetics of Host-Pathogen Relationships Between *Venturia inaequalis* Races 6 and 7 and *Malus* Species ». *Phytopathology*, Vol 90, n° 3, pp 236-242. <https://doi.org/10.1094/PHTO.2000.90.3.236>.
- Bénéjam J., Ravon E., Gaucher M., Brisset M.N., Durel C.E., et Percheviel L. (2021) « Acibenzolar-S-Methyl and Resistance Quantitative Trait Loci Complement Each Other to Control Apple Scab and Fire Blight ». *Plant Disease*, Vol 105, n° 6, pp 1702-1710. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-20-1439-RE>.
- Bénéjam J. (2021) « Résistance du pommier à la tavelle et au feu bactérien : Interactions entre les résistances génétiques et induites par les SDP ». Angers : Université d'Angers.
- Bowen J.K., Mesarich C.H., Bus V.G.M., Beresford R.M., Plummer K.M., et Templeton M.D. (2011) « *Venturia inaequalis*: The Causal Agent of Apple Scab ». *Molecular Plant Pathology*, Vol 12, n° 2, pp 105-122. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00656.x>.
- Bretauudeau J. (1978) « Atlas d'arboriculture fruitière. » Vol. 02. Ed. J.B. Baillière et Fils, Paris, 173 P.
- Broggini G.A.L., Schlathöler I., Russo G., Copetti D., Yates S.A., Studer B., Patocchi A. (2020) « Chromosome-Scale de Novo Diploid Assembly of the Apple Cultivar 'Gala Galaxy' ». *bioRxiv* <https://doi.org/10.1101/2020.04.25.058891>.
- Broman K.W., Wu H., Sen S., Churchill G.A. (2003) « R/qtl: QTL mapping in experimental crosses ». *Bioinformatics*, Vol 19, n° 7, pp 889-890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg112>.
- Brook P.J. (1976) « Seasonal pattern of maturation of *Venturia inaequalis* ascospores in New Zealand ». *New Zealand Journal of Agricultural Research*, Vol 19, n°1, pp 103-109. <https://doi.org/10.1080/00288233.1976.10421052>.
- Bus V.G.M., Rikkerink E.H.A., Caffier V., Durel C.E., Plummer K.M. (2011) « Revision of the Nomenclature of the Differential Host-Pathogen Interactions of *Venturia inaequalis* and *Malus* ». *Annual Review of Phytopathology*, Vol 49, n°1, pp 391-413. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095339>.
- Caffier V., Lasserre-zuber P., Giraud M., Lascostes M., Stievenard R., Lemarquand A., Van de weg E., Expert P., Denancé C., Didelot F., Le cam B., Durel C.E. (2014) « Erosion of quantitative host resistance in the apple × *Venturia inaequalis* pathosystem ». *Infection, Genetics and Evolution*. Vol. 27, pp. 481-489. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.02.003>
- Caffier V., Patocchi A., Expert P., Bellanger M.N., Durel C.E., Hilber-Bodmer M., Broggin G.A.L., Groenwold E., et Bus V.G.M. (2015) « Virulence Characterization of *Venturia inaequalis* Reference Isolates on the Differential Set of *Malus* Hosts ». *Plant Disease*, Vol 99, n° 3, pp 370-375. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0708-RE>.
- Calenge F., Faure A., Goerre M., Gebhardt C., Van de Weg W.E., Parisi L., et Durel C.E. (2004) « Quantitative Trait Loci (QTL) Analysis Reveals Both Broad-Spectrum and Isolate-Specific QTL for Scab Resistance in an Apple Progeny Challenged with Eight Isolates of *Venturia inaequalis* ». *Phytopathology*, Vol 94, n° 4, pp 370-379. <https://doi.org/10.1094/PHTO.2004.94.4.370>.
- Cornille A, Gladieux P, Smulders M.J.M., Roldán-Ruiz I, Laurens F., Le Cam B., Nersesyan A. (2012a) « New Insight into the History of Domesticated Apple: Secondary Contribution of the European Wild Apple to the Genome of Cultivated Varieties ». *PLoS Genetics*, Vol 8, n° 5 <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002703>.
- Cornille A. (2012b) « Diversification dans le genre *Malus* ». Sciences agricoles. Université Paris Sud - Paris XI.
- Cornille A., Giraud T., Collin E. (2012c) « Conserver et utiliser les ressources génétiques du pommier sauvage ». *Forêt Entreprise*, pp 40-41. (hal-00751499)
- Cornille A., Giraud T., Smulders M.J.M., Roldán-Ruiz I., Gladieux P. (2014) « The Domestication and Evolutionary Ecology of Apples ». *Trends in Genetic*, Vol 30, n° 2, pp 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2013.10.002>.
- Corwin, J.A., Kliebenstein D.J. (2017) « Quantitative Resistance: More Than Just Perception of a Pathogen ». *The Plant Cell*, Vol 29, n° 4, pp 655-665. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00915>.
- Daccord N., Celton J.M., Linsmith G., Becker C., Choisine N., Schijlen E., van de Geest H. (2017) « High-Quality de Novo Assembly of the Apple Genome and Methylome Dynamics of Early Fruit Development ». *Nature Genetics*, Vol 49, n° 7, pp 1099-1106. <https://doi.org/10.1038/ng.3886>.
- Deng C.H., Plummer K.M., Jones D.A.B., Mesarich C.H., Shiller J., Taranto A.P., Robinson A.J. (2017) « Comparative analysis of the predicted secretomes of Rosaceae scab pathogens *Venturia inaequalis* and *V. pirina* reveals expanded effector families and putative determinants of host range ». *BMC Genomics*, Vol 18, n° 1, pp 339. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3699-1>.
- Durel C.E., Parisi L., Laurens F., Van de Weg W.E., Liebhard R., Jourjon M.F. (2003) « Genetic Dissection of Partial Resistance to Race 6 of *Venturia inaequalis* in Apple ». *Genome*, Vol 46, n°2, pp 224-234. <https://doi.org/10.1139/g02-127>.
- FAOSTAT (2023) FAO statistics division. <http://faostat.fao.org/>
- Feurtey A. (2016) « Hybridations inter-spécifiques chez le pommier et co-évolution hôte-pathogène ». Université Paris Saclay.
- Fiala, J.L. (1994) « Flowering crabapples: the genus *Malus* ». Timber Press, Portland. 273 P.
- Forte A. V., Ignatov A.N., Ponomarenko V.V., Dorokhov D.B., Savelyev N.I. (2002) « Phylogeny of the *Malus* (Apple Tree) Species, Inferred from the Morphological Traits and Molecular DNA Analysis ». *Russian Journal of Genetics*, Vol 38, n° 10, pp 1150-1161. <https://doi.org/10.1023/A:1020648720175>.
- Gessler C., Patocchi A., Sansavini S., Tartarini S., Gianfranceschi L. (2006) « *Venturia inaequalis* Resistance in Apple ».

- Critical Reviews in Plant Sciences*, Vol 25, n° 6, pp 473-503. <https://doi.org/10.1080/07352680601015975>.
- Giraud H, Cornille A. (2014) « Les pérégrinations du pommier domestique » [en ligne] Pour la Science. Publié le 23/04/2014. Accès le 06/03/2023. <https://www.pourlascience.fr/sd/botanique/les-peregrinations-du-pommier-domestique-7863.php#:~:text=Issu%20d'un%20pommier%20sauvage,pommiers%20sauvages%20des%20r%C3%A9gions%20ravens%20C3%A9es>.
- Gladieux P., Zhang X.G., Afoufa-Bastien D., Valdebenito Sanhueza R.M, Sbaghi M., Le Cam B. (2008) « On the Origin and Spread of the Scab Disease of Apple: Out of Central Asia ». *PLoS One*, Vol 3, n° 1. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001455>.
- Harris S.A., Robinson J.P., Juniper B.E. (2002) « Genetic Clues to the Origin of the Apple ». *Trends in Genetics*, Vol 18, n° 8, pp 426-430. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(02\)02689-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(02)02689-6).
- Hellier R., Esnault R., Lance C. (2000) « Formation des fruits et des graines. » *Physiologie végétale*. Ed. Dunos ; pp 220-239.
- Jones, A.L. (1998) « Apple Scab: Role of Environment in Pathogen and Epidemic Development ». *The Epidemiology of Plant Diseases*. https://doi.org/10.1007/978-94-017-3302-1_19.
- Johnson R. (1981) « Durable resistance: definition of, genetic control, and attainment in plant breeding. » *Phytopathology*, Vol 71, n°6, pp 567-568. DOI : 10.1094/Phyto-71-567
- Jung S., Cestaro A., Troggio M., Main D., Zheng P., Cho I., Folta K.M. (2012) « Whole genome comparisons of *Fragaria*, *Prunus* and *Malus* reveal different modes of evolution between Rosaceous subfamilies ». *BMC Genomics*, Vol 13, n° 1, p 129. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-129>.
- Juniper B.E., Mabblerley D.J. (2006) «The story of the apple. » Timber Press, 219 P.
- Keitt G.W., Palmer D.H. (1937) « Heterothallism in *Venturia inaequalis* ». *Science*, Vol 85, n° 2212, p 498. <https://doi.org/10.1126/science.85.2212.498>.
- Khajuria Y.P., Kaul S., Wani A.A., Dhar M.K. (2018) « Genetics of Resistance in Apple against *Venturia Inaequalis* (Wint.) Cke ». *Tree Genetics & Genomes*, Vol 14, n° 2, p 16. <https://doi.org/10.1007/s11295-018-1226-4>.
- Laloi G. (2016) « Etude du pyramidage de résistances quantitatives du pommier à la tavelure. » Angers : Université d'Angers.
- Laloi G., Vergne E., Durel C.E., Le Cam B., Caffier V. 2017. « Efficiency of Pyramiding of Three Quantitative Resistance Loci to Apple Scab ». *Plant Pathology*, Vol 66, n° 3, pp 412-22. <https://doi.org/10.1111/ppa.12581>.
- Lassois L., Denancé C., Ravon E., Guyader A., Guisnel R., Hibrand-Saint Oyant L., Poncet C., Lasserre-Zuber P., Feugey L., Durel C.E. (2016) « Genetic Diversity, Population Structure, Parentage Analysis, and Construction of Core Collections in the French Apple Germplasm Based on SSR Markers ». *Plant Molecular Biology Reporter*, Vol 34, pp 827-844. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0966-7>.
- Laureano G., Figueiredo J., Cavaco A.R., Duarte B., Caçador I., Malhó R., Silva M.S., Matos A.R., Figueiredo A. (2018) « The interplay between membrane lipids and phospholipase A family members in grapevine resistance against *Plasmopara viticola* ». *Scientific Reports*, Vol 8, n°14538, pp 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32559-z>
- Laureano G., Cavaco A.R., Matos A.R., Figueiredo A. (2021) « Fatty Acid Desaturases: Uncovering Their Involvement in Grapevine Defence against Downy Mildew » *International Journal of Molecular Sciences*, Vol 22, n°11, p 5473. <https://doi.org/10.3390/ijms22115473>
- Le Cam B., Sargent D., Gouzy J., Amsalem J., Bellanger M.N., Bouchez O., Brown S. (2019) « Population Genome Sequencing of the Scab Fungal Species *Venturia inaequalis*, *Venturia pirina*, *Venturia aucupariae* and *Venturia asperata* ». *G3 Genes, Genomes, Genetics*, Vol 9, n° 8, pp 2405-14. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400047>.
- Lê Van A., Gladieux P., Lemaire C., Cornille A., Giraud T., Durel C.E., Caffier V., Le Cam B. (2012) « Evolution of Pathogenicity Traits in the Apple Scab Fungal Pathogen in Response to the Domestication of Its Host ». *Evolutionary Applications*, Vol 5, n° 7, pp 694-704. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2012.00246.x>.
- Liebbard R., Koller B., Patocchi A., Kellerhals M., Pfammatter W., Jermini M., Gessler C. (2003) « Mapping Quantitative Field Resistance Against Apple Scab in a “Fiesta” x “Discovery” Progeny ». *Phytopathology*, Vol 93, n° 4, pp 493-501. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.4.493>.
- Liu X., Li X., Wen X. (2021) « PacBio full-length transcriptome of wild apple (*Malus sieversii*) provides insights into canker disease dynamic response. » *BMC Genomics*, Vol 22, n°52. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07366-y>
- MacHardy W.E. (1996) « Apple Scab Biology, Epidemiology and Management ». St Paul, MN, USA: APS Press. 570 P.
- MacHardy, W.E. and Gadoury D.M. (1986) « Patterns of ascospore discharge by *Venturia inaequalis* in commercial apple orchards ». *Phytopathology*, Vol 76, n°10, pp 985- 990.
- McDonald B.A. and Linde C. (2002) « Pathogen Population Genetics, Evolutionary Potential, and Durable Resistance ». *Annual Review of Phytopathology*, Vol 40, pp 349-79. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.120501.101443>.
- McMullen M.D., Byrne P.F., Snook M.E., Wiseman B.R., Lee E.A., Widstrom N.W., Coe E.H. (1998) « Quantitative trait loci and metabolic pathways. » *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol 95, n°5, pp 1996-2000. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.1996>
- Niks R.E., Qi X., Marcel T.C. (2015) « Quantitative Resistance to Biotrophic Filamentous Plant Pathogens: Concepts, Misconceptions, and Mechanisms ». *Annual Review of Phytopathology* 53, pp 445-70. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-115928>.
- Parisi L., Guillaumès J., Lespinasse Y., Krüger J. (1993) « A New Race of *Venturia Inaequalis* Virulent to Apples with Resistance Due to the Vf Gene ». *Progress in Temperate Fruit Breeding: Proceedings of the Eucarpia Fruit Breeding Section Meeting Held at Wädenswil/Einsiedeln, Switzerland from August 30 to September 3 1993*, édité par Hanna Schmidt et Markus Kellerhals, Vol 1, p 79. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0467-8_16.
- Parlevliet J.E. (2002) « Durability of Resistance against Fungal, Bacterial and Viral Pathogens; Present Situation ». *Euphytica*, Vol 124, n° 2, pp 147-156. <https://doi.org/10.1023/A:1015601731446>.
- Parlevliet J. E., and Zadoks J. C. (1977) « The integrated concept of disease resistance: a new view including horizontal and vertical resistance in plants ». *Euphytica*, Vol 26, pp 5-21.
- Patocchi A., Wehrli A., Dubuis P.E., Auwerkerken A., Leida C., Cipriani G., Passey T. (2020) « Ten Years of VINQUEST:

- First Insight for Breeding New Apple Cultivars With Durable Apple Scab Resistance ». *Plant Disease*, Vol 104, n°8, pp 2074-2081. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2473-SR>.
- Phipps J.B., Robertson K.R., Smith P.J., Rohrer J.R. (1990) « A checklist of the subfamily Maloideae (Rosaceae) ». *Canadian Journal of Botany*, Vol 68, n°10, pp 2209-2269.
- Pleinchamp (2022) « Montée en gamme, descente en compétitivité : la pomme victime de l'effet 'tarte tatin' » [en ligne]. Publié le 29/12/2022. Accès le 03/05/2023. <https://www.pleinchamp.com/actualite/montee-en-gamme-descente-en-competitivite-4-5-la-pomme-victime-de-l-effet-tarte-tatin>
- Pilet-Nayel M.L., Moury B., Caffier V., Montarry J., Kerlan M.C., Fournet S., Durel C.E., Delourme R. (2017) « Quantitative Resistance to Plant Pathogens in Pyramiding Strategies for Durable Crop Protection ». *Frontiers in Plant Science*, Vol 8, n°1838. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.01838>.
- Poland J.A., Balint-Kurti P.J., Wissner R.J., Pratt R.C., Nelson R.J. (2009) « Shades of Gray: The World of Quantitative Disease Resistance ». *Trends in Plant Science*, Vol 14, n° 1, pp 21-29. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.006>.
- Roberts A.L. and Crute I.R. (1994) « Apple Scab Resistance from *Malus Floribunda* 821 (Vf) Is Rendered Ineffective by Isolates of *Venturia Inaequalis* from *Malus Floribunda* ». *Norwegian Journal of Agricultural Sciences*. n°17, pp 403-406.
- Roux F., Voisin D., Badet T., Balagué C., Barlet X., Huard-Chauveau C., Roby D., Raffaele S. (2014) « Resistance to Phytopathogens e Tutti Quanti: Placing Plant Quantitative Disease Resistance on the Map ». *Molecular Plant Pathology*, Vol 15, n° 5, pp 427-32. <https://doi.org/10.1111/mpp.12138>.
- Shiller J., Van de Wouw A.P., Taranto A.P., Bowen J.K., Dubois D., Robinson A., Deng C.H., Plummer K.M. (2015) « A Large Family of AvrLm6-like Genes in the Apple and Pear Scab Pathogens, *Venturia inaequalis* and *Venturia pirina* ». *Frontiers in Plant Science*, Vol 6, n°980. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00980>.
- Smereka K., Machardy W., Kausch A. (2011) « Cellular differentiation in *Venturia inaequalis* ascospores during germination and penetration of apple leaves ». *Canadian Journal of Botany*, Vol 65, n°12, pp 2549-61. <https://doi.org/10.1139/b87-346>.
- Soriano J.M., Madduri M., Schaart J.G., Van der Burgh A., Van Kaauwen M.P.W, Tomic L., Groenwold R., Velasco R., Van de Weg E., Schouten H.J. (2014) « Fine Mapping of the Gene Rvi18 (V25) for Broad-Spectrum Resistance to Apple Scab, and Development of a Linked SSR Marker Suitable for Marker-Assisted Breeding ». *Molecular Breeding*, Vol 34, n° 4, pp 2021-2032. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0159-3>.
- Soufflet-Freslon V., Gianfranceschi L., Patocchi A., Durel C.E. (2008) « Inheritance Studies of Apple Scab Resistance and Identification of Rvi14, a New Major Gene That Acts Together with Other Broad-Spectrum QTL ». *Genome*, Vol 51, n° 8, pp 657-667. <https://doi.org/10.1139/G08-046>.
- Thomma B., Penninckx I., Cammue B., Broekaert W. (2001) « The complexity of disease signaling in Arabidopsis ». *Current Opinion in Immunology*, Vol 13, n°1, pp 63-68. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(00\)00183-7](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(00)00183-7).
- Trillot M., Masseron A., Mathieu V., Bergougnaux F., Hutin C, Yves L. (2002) « Le pommier. » Centre technique interprofessionnelle des fruits et légumes. (Ctifl). Edition Lavoisier. Paris, P : 287
- Williams E. B. and Brown A.G. (1968) « A new physiological race of *Venturia inaequalis*, incitant of apple scab ». *Plant Disease Reporter*, Vol 52, pp799–801.
- Van der Plank J.E. 1968. « Disease Resistance in Plants ». Academic Press, New York/London, 206 P.
- Van Ooijen, J.W. (2011). « Multipoint maximum likelihood mapping in a full-sib family of an outbreeding species ». *Genetics Research*, Vol 93, n°5, pp 343-349. <https://doi.org/10.1017/S0016672311000279>
- Velasco R., Zharkikh A., Affourtit J., Dhingra A., Cestaro A., Kalyanaraman A., Fontana P., Bhatnagar S.K., Troggio M., Pruss D., Salvi S., Pindo M., Baldi P., Castelletti S., Cavaiuolo M., Coppola G., Costa F., Cova V., Dal Ri A., Goremykin V., Komjanc M., Longhi S., Magnago P., Malacarne G., Malnoy M., Micheletti D., Moretto M., Perazzolli M., Si-Ammour A., Vezzulli S., Zini E., Eldredge G., Fitzgerald L.M., Gutin N., Lanchbury J., Macalma T., Mitchell J.T. Reid J., Wardell B., Kodira C., Chen Z., Desany B., Niazi F., Palmer M., Koepke T., Jiwan D., Schaeffer, S.; Krishnan, V.; Wu, C.; Chu, V.T.; King, S.T.; Vick, J.; Tao, Q.; Mraz, A.; Stormo, A.; Stormo, K.; Bogden, R.; Ederle, D.; Stella, A.; Vecchietti, A.; Kater, M.M.; Masiero, S.; Lasserre, P.; Lespinasse, Y.; Allan, A.C.; Bus, V.; Chagné, D.; Crowhurst, R.N.; Gleave, A.P.; Lavezzo, E.; Fawcett, J.A.; Proost, S.; Rouzé, P.; Sterck, L.; Toppo, S.; Lazzari, B.; Hellens, R.P.; Durel, C.-E.; Gutin, A.; Bumgarner, R.E.; Gardiner, S.E.; Skolnick, M.; Egholm, M.; Van de Peer, Y.; Salamini, F. and Viola, R. (2010) « The genome of the domesticated apple (*Malus domestica* Borkh.) ». *Nature Genetics*, Vol 42, pp 833–839, <https://doi.org/10.1038/ng.654>.
- Vinatzer B.A., Patocchi A., Gianfranceschi L., Tartarini S., Zhang H.B., Gessler C. (2001) « Apple contains receptor-like genes homologous to the *Cladosporium fulvum* resistance gene family of tomato with a cluster of genes cosegregating with Vf apple scab resistance ». *Molecular Plant-Microbe Interactions*, Vol 14, n°4, pp 508–515. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.4.508>
- Walley J.W., Kliebenstein D.J., Bostock R.M., Dehesh K. (2013) « Fatty acids and early detection of pathogens ». *Current Opinion in Plant Biology*, Vol 16, n°4, pp 520-526. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.06.011>.
- Yeats T.H., and Rose J.K.C. (2008) « The Biochemistry and Biology of Extracellular Plant Lipid-Transfer Proteins (LTPs) ». *Protein Science*, Vol 17, n°2, pp 191-198. <https://doi.org/10.1110/ps.073300108>.
- Zhang L., Hu J., Han X., L J.i, Gao Y., Richards C.M., Zhang C. (2019) « A High-Quality Apple Genome Assembly Reveals the Association of a Retrotransposon and Red Fruit Colour ». *Nature Communications*, Vol 10, n°1, p 1494. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09518-x>

Annexes

Annexe 1 : Photos des symptômes de sensibilité et de résistance notés lors des expérimentations sous serre sur la descendance de la famille F



(A) Symptôme de sensibilité : sporulation



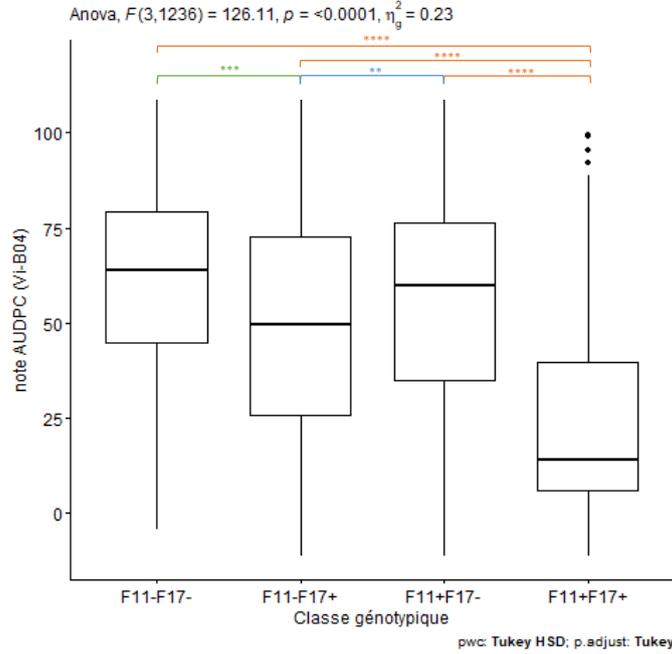
(B) Symptôme de résistance : chlorose



(C) Symptôme de résistance : crispation

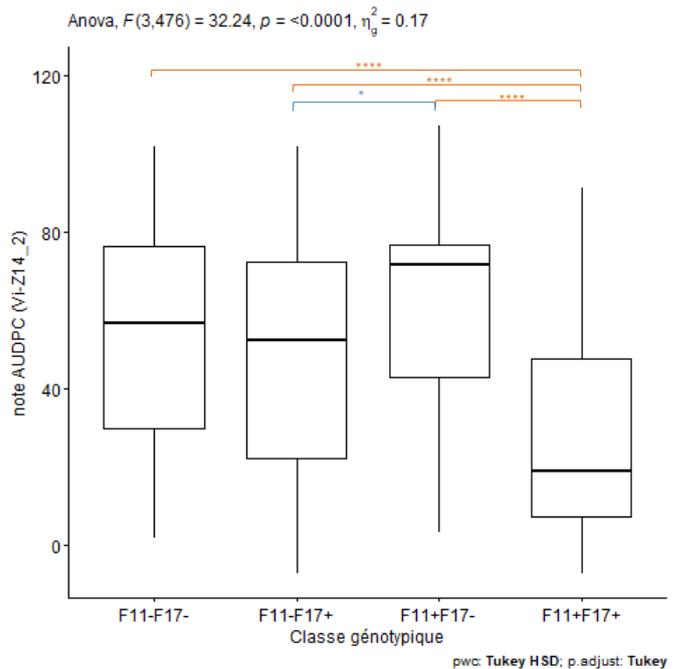
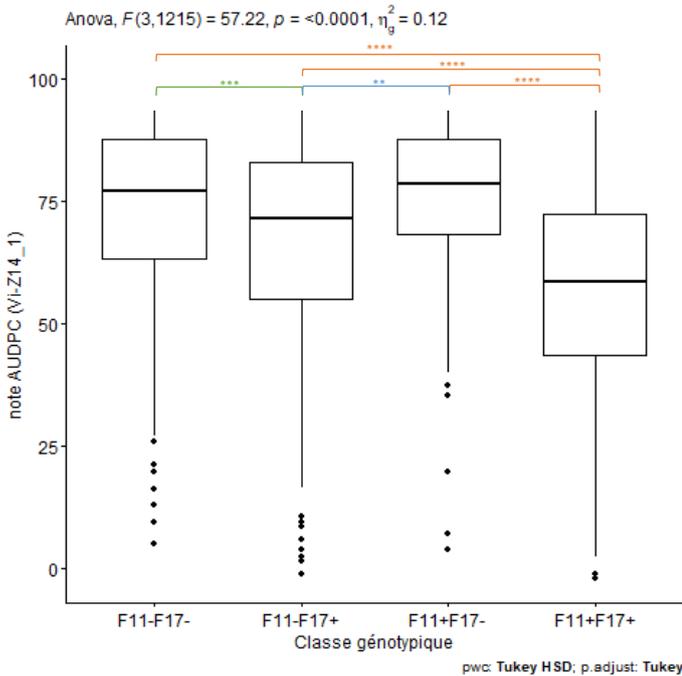
Annexe 2 : Distribution des notes d'AUDPC en fonction des classes génotypiques construites avec la présence et/ou l'absence de deux QTLs (qF11 et qF17) obtenus lors des trois inoculations réalisées avec deux souches (Vi-B04, Vi-Z14_1 et Vi-Z14_2, respectivement présentée en panel (A), (B) et (C)) sur les individus de la famille F.

A Inoculation Vi-B04



B Inoculation Vi-Z14_1

C Inoculation Vi-Z14_2



La significativité des différences de notes d'AUDPC entre les classes a été testé par ANOVA. Significativité du test : "****" si la valeur p est $< 0,0001$ "****" si la valeur p est $< 0,001$; "****" si la valeur p est $< 0,01$; "****" si la valeur p est $< 0,05$; "." si la valeur p est $< 0,10$; sinon non significatif

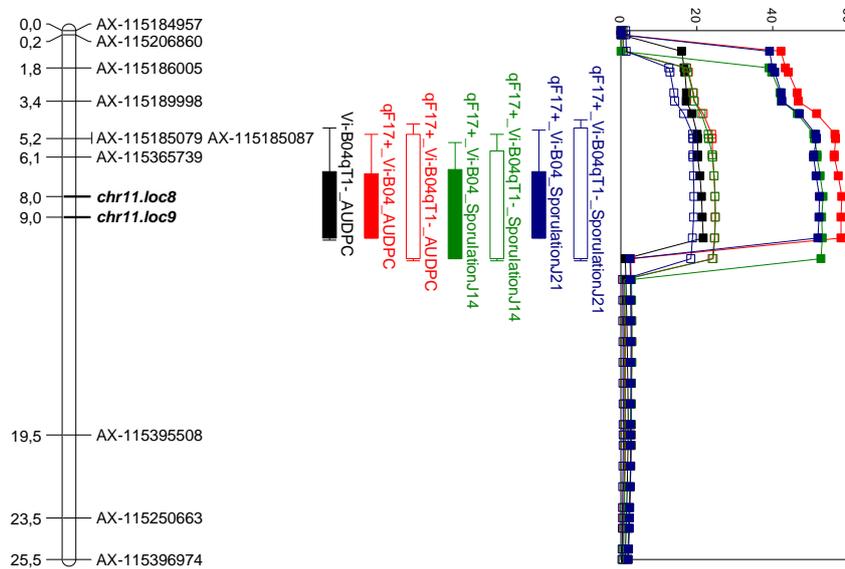
*Annexe 3 : Tableau des interactions épistatiques qF11*qF17 significatives lors des détections de QTL, avec la position des QTLs en interactions et le R² associé*

Jeu de données	Variable	QTLs et positions (cM)	R ²
Vi-B04	AUDPC	11@10.0:17@12.0	30.7
	Sporulation J14	11@10.0:17@12.0	29.19
	Sporulation J21	11@8.0:17@12.0	15.63
Vi-B04qT1-	AUDPC	11@10.0:17@12.8	41.95
	Sporulation J14	11@11.0:17@12.8	29.18
	Sporulation J21	11@9.0:17@12.8	33.73
Vi-Z14_1	AUDPC	11@5.2:17@12.0	18.63
	Sporulation J14	11@5.2:17@12.0	18.06
	Sporulation J21	11@5.2:17@10.0	13.44
Vi-Z14_2	AUDPC	11@5.2:17@12.0	19.03
	Sporulation J14	11@5.2:17@12.0	17.51
	Sporulation J21	11@6.0:17@12.0	17.87
Vi-Z14_moyadj	AUDPC	11@5.2:17@12.0	26.38
	Sporulation J14	11@5.2:17@12.0	27.75
	Sporulation J21	11@5.2:17@12.0	17.25

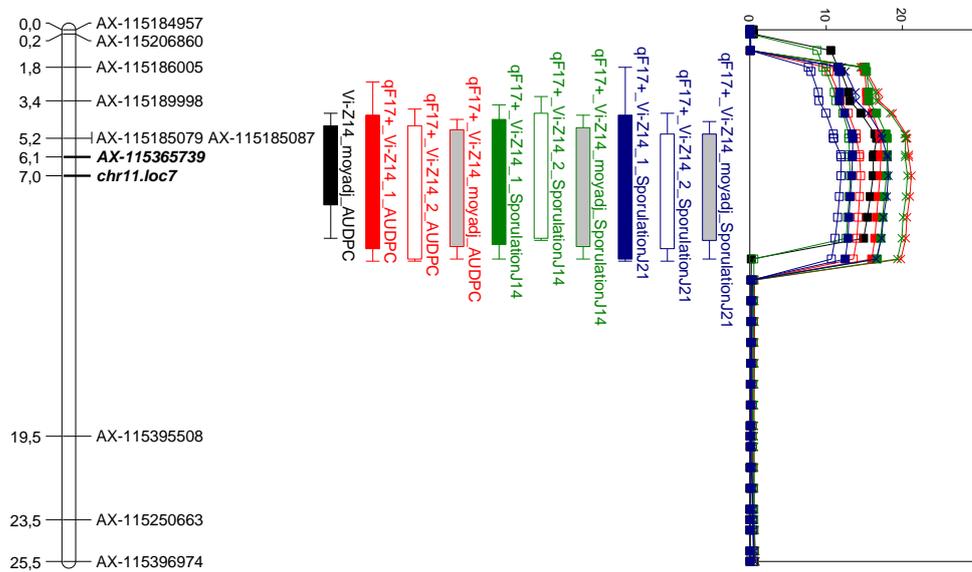
Note de lecture pour QTLs et positions : 11@10.0:17@12.0 signifie que le QTL qF11 identifié à la position 10cM est en interaction avec le QTL qF17 détecté à la position 12 cM.

Annexe 4 : Carte génétique, intervalles de confiance et courbes de LOD associés au locus de caractères quantitatifs qF11 lors des différentes détections avec la première souche de Venturia Vi-B04 (A) et la deuxième Vi-Z14 (B) en sélectionnant sur les individus qF17+

A Vi-B04



B Vi-Z14



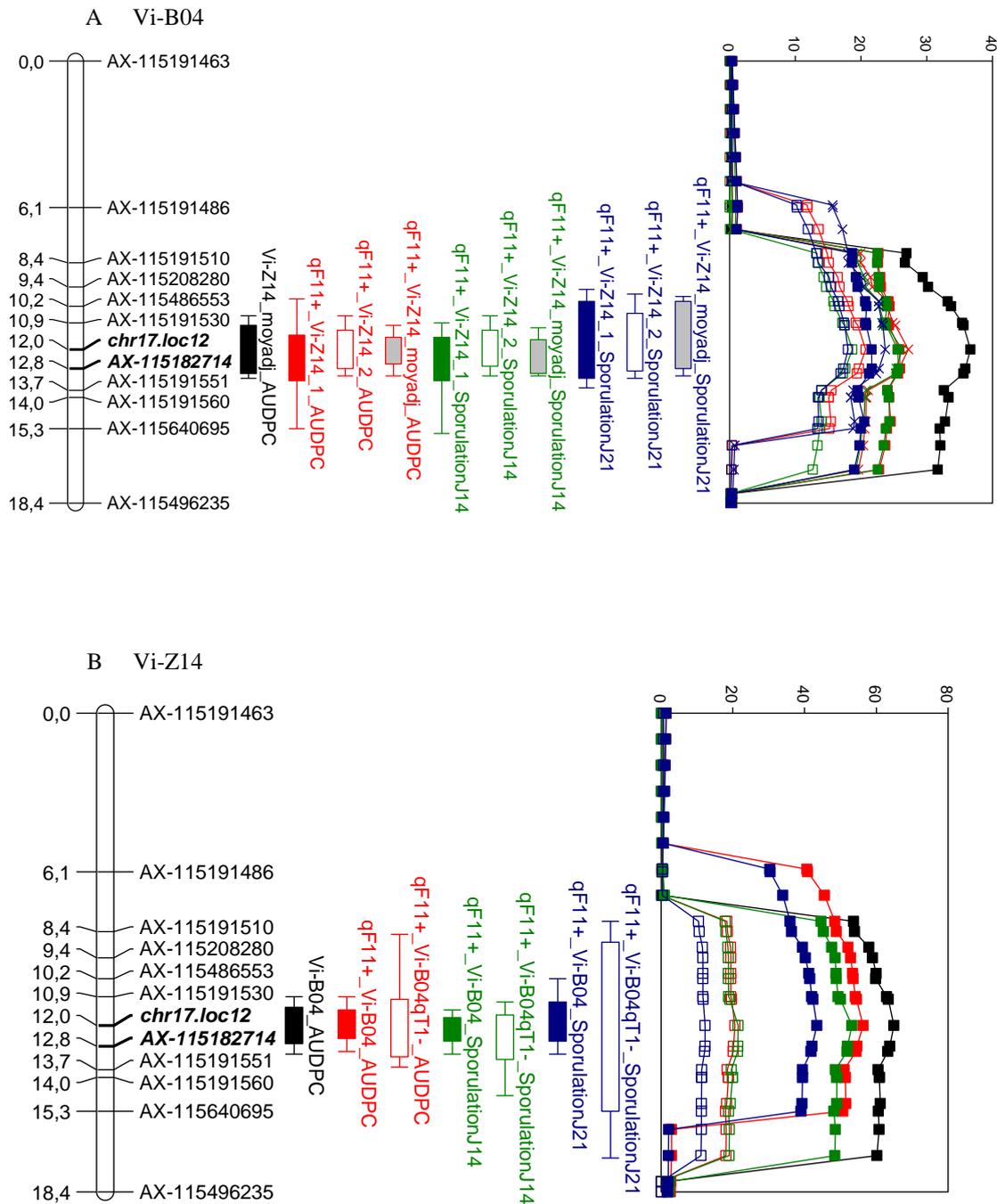
Marqueur en gras et italique : marqueurs le plus souvent au pic de LOD ; intervalle de confiance LOD-1 et LOD-2

Annexe 5 : Paramètres associés au locus de caractères quantitatifs qF11 identifiés pour la résistance à la tavelure dans la famille F avec les différents jeux de données et variables utilisées sur la sélection des individus qF17+

Jeu de données	Variable	Chr	Position	LOD	R ²	Clmin	Clmax	MarqueurPosition
qF17+_Vi-B04	AUDPC	11	8	58	18.29	4	11	AX-115365739
	Sporulation J14	11	8	53	17.81	5.17	12	AX-115365739
	Sporulation J21	11	8	52	15.47	4	11	AX-115365739
qF17+_Vi-B04qT1-	AUDPC	11	9	25	24.23	4	12	AX-115365739
	Sporulation J14	11	9	25	24.05	4	12	AX-115365739
	Sporulation J21	11	8	19	19.27	4	12	AX-115365739
qF17+_Vi-Z14_1	AUDPC	11	6	17	9.87	2	12	AX-115365739
	Sporulation J14	11	6	18	9.97	3.37	12	AX-115365739
	Sporulation J21	11	5.16	14	8.81	1	12	AX-115185087
qF17+_Vi-Z14_2	AUDPC	11	7	15	10.32	3.37	12	AX-115365739
	Sporulation J14	11	7	13	10	3	11	AX-115365739
	Sporulation J21	11	6.07	12	8.4	3.37	12	AX-115365739
qF17+_Vi-Z14_moyadj	AUDPC	11	7	21	13.54	4	12	AX-115365739
	Sporulation J14	11	7	21	13.93	4	12	AX-115365739
	Sporulation J21	11	7	18	11.93	4	12	AX-115365739

Chr : chromosome sur lequel la détection est effectuée ; Position : position du QTL en cM ; LOD : LODscore ; R² : pourcentage d'explication de la variation phénotypique expliquée par le QTL ; Clmin et max : borne de l'intervalle de confiance inférieure et supérieure ; En italique : le pic de LOD du QTL correspond à un marqueur fantôme, en MarqueurPosition il est donc indiqué le marqueur réel le plus proche du marqueur fantôme détecté

Annexe 6 : Carte génétique, intervalles de confiance et courbes de LOD associés au locus de caractères quantitatifs qF17 lors des différentes détections avec la première souche de *Venturia* Vi-B04 (A) et la deuxième Vi-Z14 (B) en sélectionnant sur les individus qF11+



Marqueur en gras et italique : marqueurs le plus souvent au pic de LOD ; intervalle de confiance LOD-1 et LOD-2

Annexe 7 : Paramètres associés au locus de caractères quantitatifs qF17 identifiés pour la résistance à la tavelure dans la famille F avec les différents jeux de données et variables utilisées sur la sélection des individus qF11+

Jeu de données	Variable	LG	Position	LOD	R ²	Clmin	Clmax	MarqueurPosition
qF11+_Vi-B04	AUDPC	17	12	56	29.45	10.89	13.65	<i>AX-115182714</i>
	Sporulation J14	17	12	53	29.42	11	13.65	<i>AX-115182714</i>
	Sporulation J21	17	12	43	22.7	10	13.65	<i>AX-115182714</i>
qF11+_Vi-B04qT1-	AUDPC	17	12	21	34.43	8.41	15	<i>AX-115182714</i>
	Sporulation J14	17	12	21	35.07	11	15	<i>AX-115182714</i>
	Sporulation J21	17	12.77	12	21.93	7	18	<i>AX-115182714</i>
qF11+_Vi-Z14_1	AUDPC	17	12.77	26	17.21	9.44	15.33	<i>AX-115182714</i>
	Sporulation J14	17	12.77	26	16.84	9.44	15	<i>AX-115182714</i>
	Sporulation J21	17	12.77	22	15.39	9.44	15	<i>AX-115182714</i>
qF11+_Vi-Z14_2	AUDPC	17	12	21	25.73	10.19	13.65	<i>AX-115182714</i>
	Sporulation J14	17	12	19	25.23	10.19	13.65	<i>AX-115182714</i>
	Sporulation J21	17	12	18	23.01	9.44	13.65	<i>AX-115182714</i>
qF11+_Vi-Z14_moyadj	AUDPC	17	12	27	32.39	10.89	13.65	<i>AX-115182714</i>
	Sporulation J14	17	12	26	32.02	11	13.65	<i>AX-115182714</i>
	Sporulation J21	17	12	24	28.72	9.44	13.65	<i>AX-115182714</i>

Chr : chromosome sur lequel la détection est effectuée ; Position : position du QTL en cM ; LOD : LODscore ; R² : pourcentage d'explication de la variation phénotypique expliquée par le QTL ; Clmin et max : borne de l'intervalle de confiance inférieure et supérieure ; En italique : le pic de LOD du QTL correspond à un marqueur fantôme, en MarqueurPosition il est donc indiqué le marqueur réel le plus proche du marqueur fantôme détecté

Annexe 8 : Paramètres associés au locus de caractères quantitatifs *qT1*, *qT13*, *qF3*, *qF11* et *qF17* issus de Bénéjam et al. (2021)

Trait	Chr	Position			Clmin (cM)	CImax (cM)	MarqueurPosition	MarqueurCimin	MarqueurCimax	Position (pb)	Clmin (pb)	CImax (pb)
		(cM)	LOD	R ²								
Vi-B04	1	43	77.1	69.9	41.01	44.23	CH-Vf1	AX-115183660	NZmsCN879773	27 995 106	27 463 116	28 420 266
	13	3.58	6.3	2.8	0	6.8	AX-115187335	AX-115187276	AX-115187348	2 551 539	56 073	3 226 090
	11	6	8.9	7.7	0	20.98	AX-115185014	CH04h02y_F	AX-115185237	2 116 156	336 821	7 332 346
	17	18.92	16.7	12.8	16.52	20.9	AX-115191544	AX-115191505	AX-115182714	8 649 086	7 327 064	8 993 412
Vi-B04_qT1-	13	3.58	8.6	9.3	0	6.8	AX-115187335	AX-115187276	AX-115187348	2 551 539	56 073	3 226 090
	3	13.36	5.7	5.5	8.25	18.54	AX-105191662	AX-115193325	AX-115193408	4 837 464	3 348 750	6 520 997
	11	5	10.7	18.1	0	20.98	AX-115186005	CH04h02y_F	AX-115185237	933 836	336 821	7 332 346
	17	18.92	12.4	29	16.52	27.35	AX-115191544	AX-115191505	AX-105184458	8 649 086	7 327 064	10 717 782
Vi-Z14	1	45.03	9.4	10.7	39.01	52.89	AX-115183726	AX-115182062	AX-105193514	28 685 721	26 879 708	30 888 786
	13	3.18	10.9	10.1	0	6.8	AX-115187322	AX-115187276	AX-115187348	1 899 859	56 073	3 226 090
	3	3.92	5.1	5.3	0	9.03	AX-115185157	AX-115196428	AX-115193333	1 676 902	76 385	3 526 812
	11	5.53	7.8	7.9	0	20.98	AX-115189994	CH04h02y_F	AX-115185237	1 402 005	336 821	7 332 346
	17	18.92	9.1	10.7	14.18	27.35	AX-115191544	AX-115191463	AX-105184458	8 649 086	5 701 996	10 717 782

Chr : chromosome sur lequel la détection est effectuée ; Position : position du QTL en cM et en pb ; LOD : LODscore ; R² : pourcentage d'explication de la variation phénotypique expliquée par le QTL ; Clmin et max : borne de l'intervalle de confiance inférieure et supérieure en cM et en pb

Annexe 9 : Marqueurs et positions associés aux intervalles de confiance et pic de QTL pour qT1

Jeu de données	Variable	Type	Chr	MarqueurPosition	MarqueurCmin	MarqueurCmax	Position	Cmin	Cmax	IC	NBGenes
Vi-Z14	AUDPC	Old	1	AX-115183726	AX-115182062	AX-105193514	28685721	26879708	30888786	4 009 078	514
	AUDPC(1)	New	1	AX-115183713	AX-115182062	AX-115422378	28379141	26879708	30755119	3 875 411	497
Vi-B04	AUDPC	Old	1	CH-Vf1	AX-115183660	NZmsCN879773	27995106	27463116	28420266	957 150	123
	AUDPC	New	1	AX-115385376	AX-115182062	AX-115183713	27722168	26879708	28379141	1 499 433	202
	Chlorose J14	New + petit	1	AX-115385376	AX-115183657	AX-115662155	27722168	27465802	28076786	610 984	93

Chr : chromosome sur lequel la détection est effectuée ; MarqueurPosition : marqueur au pic ; MarqueurCmin ou Cmax : marqueur à la borne inférieur et à la borne supérieur ; Position : position du QTL en pb ; Cmin et max : borne de l'intervalle de confiance inférieure et supérieure en pb ; IC : intervalle de confiance LOD-2 en pb ; NBGenes : nombre de gènes sous l'intervalle

Annexe 10 : Marqueurs et positions associés aux intervalles de confiance et pic de QTL pour qT13

Jeu de données	Variable	Type	Chr	MarqueurPosition	MarqueurCmin	MarqueurCmax	Position	Cmin	Cmax	IC	NBGenes
Vi-Z14	AUDPC	Old	13	AX-115187322	AX-115187276	AX-115187348	1899859	56073	3226090	3170017	462
	AUDPC (moyadj)	New	13	AX-115187347	AX-115182477	AX-115187356	2828655	364187	3230136	2865949	411
	AUDPC (2)	New + petit	13	AX-115187347	AX-115187322	AX-115187365	2828655	1899859	3828905	1929046	283
Vi-B04	AUDPC	Old	13	AX-115187335	AX-115187276	AX-115187348	2551539	56073	3226090	3170017	462
	AUDPC	New	13	-	-	-	-	-	-	-	-
Vi-B04qT1-	AUDPC	Old	13	AX-115187335	AX-115187276	AX-115187348	2551539	56073	3226090	3170017	462
	AUDPC	New	13	AX-115187347	AX-115182477	AX-115187365	2828655	364187	3828905	3464718	491

Chr : chromosome sur lequel la détection est effectuée ; MarqueurPosition : marqueur au pic ; MarqueurCmin ou Cmax : marqueur à la borne inférieur et à la borne supérieur ; Position : position du QTL en pb ; Cmin et max : borne de l'intervalle de confiance inférieure et supérieure en pb ; IC : intervalle de confiance LOD-2 en pb ; NBGenes : nombre de gènes sous l'intervalle

Annexe 11 : Marqueurs et positions associés aux intervalles de confiance et pic de QTL pour qF11

Jeu de données	Variable	Type	Chr	MarqueurPosition	MarqueurCmin	MarqueurCmax	Position	Cmin	Cmax	IC	NBGenes
Vi-Z14	AUDPC	Old	11	AX-115189994	CH04h02y_F	AX-115185237	1 402 005	336 821	7 332 346	6 995 525	824
	AUDPC (moyadj)	New	11	AX-115185087	AX-115189998	zone ROH	2 832 714	1 399 890	5 477 396	4 077 506	458
Vi-B04	AUDPC	Old	11	AX-115185014	CH04h02y_F	AX-115185237	2 116 156	336 821	7 332 346	6 995 525	824
	AUDPC	New	11	AX-115365739	AX-115189998	zone ROH	3 177 310	1 399 890	5 477 396	4 077 506	458
Vi-B04qT1-	AUDPC	Old	11	AX-115186005	CH04h02y_F	AX-115185237	933 836	336 821	7 332 346	6 995 525	824
	AUDPC	New	11	AX-115365739	AX-115189998	zone ROH	3 177 310	1 399 890	5 477 396	4 077 506	458
	Sporulation J14	New + petit	11	AX-115365739	AX-115185079	zone ROH	3 177 310	2 825 970	5 477 396	2 651 426	308

Chr : chromosome sur lequel la détection est effectuée ; MarqueurPosition : marqueur au pic ; MarqueurCmin ou Cmax : marqueur à la borne inférieur et à la borne supérieur ; Position : position du QTL en pb ; Cmin et max : borne de l'intervalle de confiance inférieure et supérieure en pb ; IC : intervalle de confiance LOD-2 en pb ; NBGenes : nombre de gènes sous l'intervalle

Annexe 12 : Marqueurs et positions associés aux intervalles de confiance et pic de QTL pour qF17

Jeu de données	Variable	Type	Chr	MarqueurPosition	MarqueurCmin	MarqueurCmax	Position	Cmin	Cmax	IC	NBGenes
Vi-Z14	AUDPC	Old	17	AX-115191544	AX-115191463	AX-105184458	8 649 086	5 701 996	10 717 782	5 015 786	529
	AUDPC (moyadj)	New	17	AX-115182714	AX-115486553	AX-115191551	8 993 412	8 191 642	9 433 585	1 241 943	130
Vi-B04	AUDPC	Old	17	AX-115191544	AX-115191505	AX-115182714	8 649 086	7 327 064	8 993 412	1 666 348	167
	AUDPC	New	17	AX-115182714	AX-115191530	AX-115191551	8 993 412	8 370 138	9 433 585	1 063 447	111
Vi-B04qT1-	AUDPC	Old	17	AX-115191544	AX-115191505	AX-105184458	8 649 086	7 327 064	10 717 782	3 390 718	343
	AUDPC	New	17	AX-115182714	AX-115191510	AX-115640695	8 993 412	7 329 791	9 900 455	2 570 664	267

Chr : chromosome sur lequel la détection est effectuée ; MarqueurPosition : marqueur au pic ; MarqueurCmin ou Cmax : marqueur à la borne inférieur et à la borne supérieur ; Position : position du QTL en pb ; Cmin et max : borne de l'intervalle de confiance inférieure et supérieure en pb ; IC : intervalle de confiance LOD-2 en pb ; NBGenes : nombre de gènes sous l'intervalle



Diplôme : l'Institut Agro Rennes-Angers (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)

Spécialité : Ingénieur Agronome

Spécialisation / Option : Sciences et Ingénierie du Végétal / Génétique et Amélioration des Plantes

Enseignant référent : Anne LAPERCHE

Auteur(s) : **Camille HAQUET**

Date de naissance* : 21/12/2000

Nb pages : 28

Annexe(s) : 12

Année de soutenance : 2023

Organisme d'accueil : INRAE – UMR IRHS

Adresse : 42 RUE GEORGES MOREL
CS 60057

49071 BEAUCOUZÉ CEDEX France

Maîtres de stage : Julie FERREIRA DE
CARVALHO, Charles-Eric DUREL, Caroline
DENANCE

Titre français : Cartographie fine et étude des interactions épistatiques entre QTLs de résistance à la tavelure chez le pommier

Titre anglais : Fine mapping and study of epistatic interactions between apple scab resistance QTLs

Résumé :

La tavelure, première maladie fongique chez le pommier (*Malus domestica*), est causée par le champignon pathogène *Venturia inaequalis* (*Vi*). Avec la réduction de l'utilisation de produits phytosanitaires, la nécessité de construire des variétés plus résistantes génétiquement est un enjeu majeur. Une des voies possibles, recourant au pyramidage et à la diversification des mécanismes moléculaires de résistance, nécessite une meilleure compréhension des fonctions liées aux Quantitative Trait Loci (QTL). Ainsi, identifier des gènes sous-jacents aux QTLs de résistance à la tavelure chez le pommier (qT1, qT13, qF3, qF11, qF17) permettrait d'émettre des hypothèses sur les voies moléculaires impliquées. Pour réduire les intervalles de confiances des QTLs étudiés, une approche de cartographie fine a été adoptée. Près de 2000 individus issus d'une descendance, ont été génotypés et phénotypés après inoculation de *Vi*, permettant la détection de QTLs. Les bornes des QTLs ont été largement réduites, et à l'aide de données transcriptomiques, des gènes candidats ont pu être identifiés comme surexprimés après inoculation de *Vi* sous les intervalles de qT1, qF11 et qF17. Ainsi, qT1 (co-localisant avec le gène majeur Rvi6) semble lié à la reconnaissance du champignon, tandis que des hypothèses sur les voies moléculaires de qF11 et qF17 (gènes en interaction épistatique favorable) ont été formulées et impliqueraient des acides gras insaturés et des phytohormones liées à la signalisation des défenses. Ces connaissances ouvrent la voie à la création de nouvelles variétés de pommiers comportant un pyramidage de QTLs et gènes majeurs avec différents mécanismes moléculaires menant à des résistances plus durables.

Abstract :

Applescab is the first fungal disease on apples and is caused by the pathogenic fungus *Venturia inaequalis* (*Vi*). With the reduction in the use of phytosanitary products, the need to build genetically resistant varieties is a major issue. One way to achieve this, is to combine diverse molecular mechanisms of resistance and it requires to deepen our understanding of functions behind Quantitative Trait Loci (QTL). Thus, identifying candidate genes underlying the resistance QTLs of applescab (qT1, qT13, qF3, qF11, qF17) would allow to unravel the molecular pathways implicated in apple resistance to applescab. To reduce the confidence intervals of the studied QTLs, a fine mapping approach was followed. Approximately 2000 individuals from a progeny were genotyped and phenotyped after inoculation with *Vi*, allowing the detection of QTLs. The QTL borders were largely reduced, and using previous transcriptomic data, candidate genes were identified as overexpressed within the intervals of qT1, qF11 and qF17 after *Vi* inoculation. Therefore, qT1 (co-located with the major gene Rvi6) appears to be related to fungus recognition, while hypotheses on the molecular pathways of qF11 and qF17 (genes in favorable epistatic interaction) have been formulated and would involve unsaturated fatty acids and plant hormones related to defense signaling. This knowledge paves the way to the creation of apple varieties combining QTLs and major genes with different molecular mechanisms leading to durable resistance.

Mots-clés : Cartographie fine, QTL, interaction épistatique, tavelure, *Venturia inaequalis*, *Malus X domestica*

Key Words: Fine mapping, QTL, epistatic interactions, apple scab, *Venturia inaequalis*, *Malus X domestica*